

BACTERIOLOGIE SYSTEMATIQUE

2002/2003 **D.C.E.M. 1**

Table des auteurs

- Le diagnostic bactériologique d'une infection
  P. Berche
- Les staphylocoques
  P. Berche
- Les streptocoques
  P. Berche
- Les bactéries des diarrhées aiguës
  P. Berche
- Les bactéries des infections respiratoires communautaires
  P. Berche
- Les bactéries des maladies sexuellement transmissibles
  S. Kayal
- Les bactéries des infections bactériennes du système nerveux central
  X. Nassif
- Les bactéries des infections nosocomiales
  C. Poyart
- Les mycobactéries
  P. Berche
- Vaccins bactériens
  X. Nassif

Le diagnostic bactériologique d'une infection

Le diagnostic bactériologique d'une infection

Définitions

Les bactéries sont classées à partir des données du génome (GC%, séquençage partiel ou total) en grandes familles, en genres et espèces. Un genre peut comporter plusieurs espèces génétiquement proches. Exemples : la famille des *Vibrionacae*, le genre *Vibrio*, l'espèce *Vibrio cholerae ;* la famille des *Enterobacteriacae,* le genre *Klebsiella* , les espèces *Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozenae, Klebsiella oxytoca, et Klebsiella rhinoscleromatis.* On utilise en pratique pour désigner les bactéries uniquement les noms de genre et d'espèce. Les noms de bactéries s'écrivent en italiques. En l'absence d'identification précise d'une espèce (ce qui peut arriver sans affecter les décisions thérapeutiques), on utilise la nomenclature *sp* (espèce non précisée): exemple *Klebsiella sp*. Chaque espèce est constituée d'une population d'individus appelés souches ou isolats bactériens. Ces souches présentent des variations phénotypiques (sensibilité aux antibiotiques, tests biochimiques…) et sont définies par un profil génétique de restriction qui leur est propre. Certaines espèces bactériennes sont oligoclonales, c'est-à-dire qu'elles ne comprennent que très peu de souches, d'autres sont très hétérogènes comprenant beaucoup de souches (hétéroclonales). L'isolement d'une même souche chez plusieurs patients définit une épidémie.

Diagnostic bactériologique

La stratégie diagnostic est d'isoler et d'identifier le germe responsable d'une infection à partir des produits pathologiques, et éventuellement de mettre en évidence une réponse immune spécifique du germe suspecté.

Le diagnostic direct :
On cherche d'abord à détecter la bactérie ou ses constituants (protéines, polyosides, acides nucléiques). Il faut ensuite isoler en culture et identifier le genre et l'espèce auxquels appartiennent la bactérie. La souche isolée pourra être caractérisée par des marqueurs épidémiologiques pour éventuellement la comparer à des souches de même espèce isolées chez d'autres patients, dans le but de reconnaître une épidémie.
Le diagnostic indirect :
Le diagnostic direct peut être complété en détectant la réponse immunitaire spécifique de la bactérie suspectée (anticorps), ce qui donne un argument en faveur du rôle étiologique d'une bactérie, sans toutefois preuve absolue.

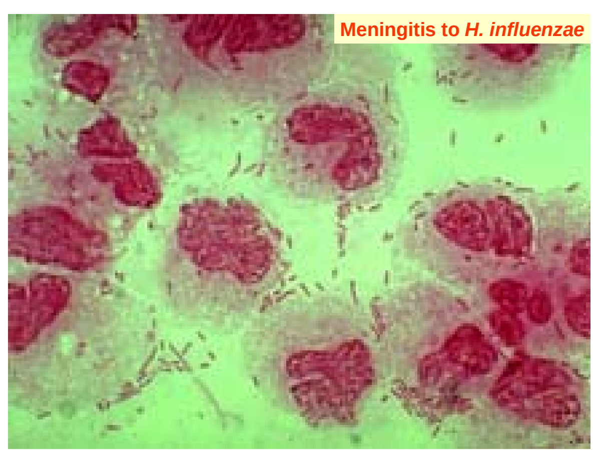
Prélèvements

Les prélèvements des produits pathologiques sont guidés par la symptomatologie et l'examen clinique et doivent être effectués :
(1) le plus tôt possible, avant l'antibiothérapie
(2) à la porte d'entrée cutanéo-muqueuse toujours recherchée, dans le sang au cours de la dissémination (bactériémie) et éventuellement dans les organes cibles (LCR, abcès profonds par ponction, épanchements...).
(3) de façon stérile et rapidement acheminés au laboratoire
Il existe des prélèvements monomicrobiens, provenant de sites normalement stériles (sang, urine, LCR, tissus...) , et pour cela d'interprétation assez facile. A l'opposé, il existe des prélèvements polymicrobiens provenant du revêtement cutanéo-muqueux associé à une flore commensale (gorge, selles, vagin, peau). Le diagnostic est plus difficile, car il faut repérer une bactérie pathogène au milieu de bactéries commensales souvent très abondantes.

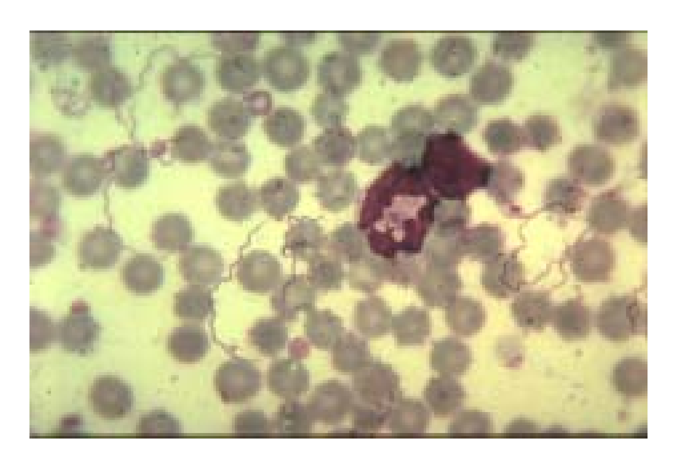
Diagnostic bactériologique direct
L'examen microscopique

L'examen microscopique reste un acte fondamental du diagnostic bactériologique . Il comporte :
(1) un examen en lumière blanche à l'état frais et après coloration : coloration de Gram (pour la plupart des bactéries médicales), coloration de Ziehl- Neelsen (pour les mycobactéries), coloration à l'argent (pour les bactéries très fines : tréponèmes, spirochètes…) ;
(2) examen en fluorescence (mycobactéries…)
(3) examen en contraste de phase et au fond noir (pour les bactéries très fines)
L'examen microscopique des produits pathologiques précise : (1) l'abondance et la diversité de la flore bactérienne (monomorphe, polymorphe) ; (2) la forme des bactéries (coques, bacilles, spiralés…), leur taille (1-10 µ), l'association des bactéries entre elles (diplocoques, amas, chaînettes…), leur caractère Gram + ou Gram - (ou mycobactéries, spirochètes…) et leur position intra ou extracellulaire ; (3) l'intensité de la réaction inflammatoire (polynucléaires neutrophiles, hématies, monocytes, lymphocytes).

L'examen microscopique est un examen capital, rapide, très informatif, conditionné par la qualité du prélèvement.



méningite à Haemophilus influenzae


Bactéries spiralées (*Borellia recurrentis*) dans le sang.

Détection des antigènes solubles dans les produits pathologiques

Dans certains cas particuliers, on peut être amené à rechercher des antigènes bactériens directement dans les produits pathologiques. Les méthodes de détection rapide des antigènes utilisent des anticorps monoclonaux (mAb), lors de tests dit au latex, ELISA, ou par immuno-fluorescence. Par exemple au cours des méningites, on peut détecter en quelques minutes des antigènes de pneumocoques, méningocoques et hémophiles, ou dans les prélèvements génito-urinaires des antigènes de Chlamydia et mycoplasmes. Ces tests restent peu sensibles et requiert un nombre élevé de bactéries (> 10^{5-6} / mL).

Isolement et identification en culture

Les conditions de culture sont les milieux de culture, la présence ou non d'oxygène et la température d'incubation des bactéries.

milieux de culture

La majorité des bactéries croissent in vitro sur milieux de culture (milieux gélosés et bouillons) : milieux ordinaires (type gélose trypticase-soja), milieux enrichis (sérum, sang, ascite…), milieux sélectifs (contenant des antiseptiques), milieux liquides d'enrichissement

(contenant des antiseptiques ou incubés à une température non permissive pour la flore commensale mais laissant croître certaines bactéries pathogènes).

aérobiose et température

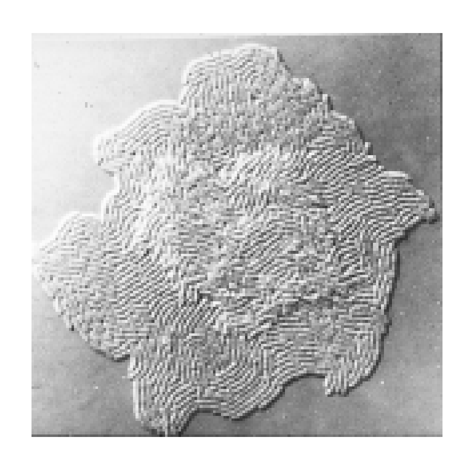
Les bactéries sont incubées en aérobie ou anaérobie, ou en présence de C02 (5-10%), définissant des bactéries aérobies, anaérobies ou microaérophiles (10% O_2). La température d'incubation est habituellement de 35-37°C.

vitesse de croissance

(1) La vitesse de croissance peut être rapide en 24-48h, (20 min à 60 min de temps de génération pour la plupart des bactéries médicales courantes, telles que staphylocoques, streptocoques, entéro-bactéries…).
(2) Certaines bactéries ont une croissance lente : *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose) croît en 2-3 semaines (temps de génération 24-48 h).
(3) Certaines bactéries ne peuvent être cultivées in vitro (*Mycobacterium leprae, Treponema pallidum*) et ont un temps de génération très long in vivo chez l'animal de 12-14 jours.
(4) Certaines bactéries nécessitent des milieux de culture particuliers leur fournissant les nutriments et les conditions (osmolarité…) nécessaires à leur croissance (*Mycoplasma, Borrelia, Leptospira*).
(5) Certaines bactéries sont des parasites intracellulaires stricts, comme les virus, et requiert des milieux de culture cellulaire (*Chlamydia, Rickettsia, Trophe-ryma whippelii*).

Les colonies

Pour la plupart des bactéries médicales courantes(staphylocoques,streptocoques, entérobactéries…), des colonies visible à l'œil nu apparaissent sur la gélose habituellement en 24-48 h. Chaque colonie correspond à environ 1-2 x 10^9 bactéries et résulte de la multiplication rapide d'une seule bactérie (''clonage"). On note l'aspect des colonies, leur taille (1-3 mm), leur éventuelle pigmentation (vert, jaune, rouge…), la présence d'une hémolyse sur gélose au sang. La suite du processus d'identification part de colonies isolées pour définir les caractères biochimiques d'identification.



Colonies de E coli en formation au bout de 4h. Descendance d'une seule bactérie.





Colonies de *H influenzae* (gélose sang)

Identification de l' espèce bactérienne

On identifie la bactérie suspecte dans des produits pathologiques sur des caractères morphologiques, nutrition-nelles, respiratoires et biochimiques.
Les caractères morphologiques des bactéries et de leurs colonies :
(1) coque, bacille, bactérie spiralée

(2) bactérie à Gram positif ou négatif, ou non colorable par la coloration de Gram (Ziehl-Neelsen : mycobactéries…).

- Les exigences nutritionnelles

bactérie nécessitant des milieux enrichis (hémine, ascite, sérum, sang ...) et requérant ou non des facteurs de croissance : bactéries auxotrophes (facteurs de croissance : aminoacides, vitamines…) ou prototrophes (croissance sans facteur de croissance).

- Les propriétés de respiration et de fermentation : bactérie aérobie, anaérobie ou aéro-anaérobie, capable de respiration et/ou de fermentation des sucres, utilisation des sucres (fermentation avec ou sans gaz) détectée par les galerie dites API.

- La production d'enzymes (catalase, oxydase, nitrate-réductase, protéases, lécithinases,...)

L'ensemble de ces caractères biochimiques définit le phénotype de la bactérie ou biotype.

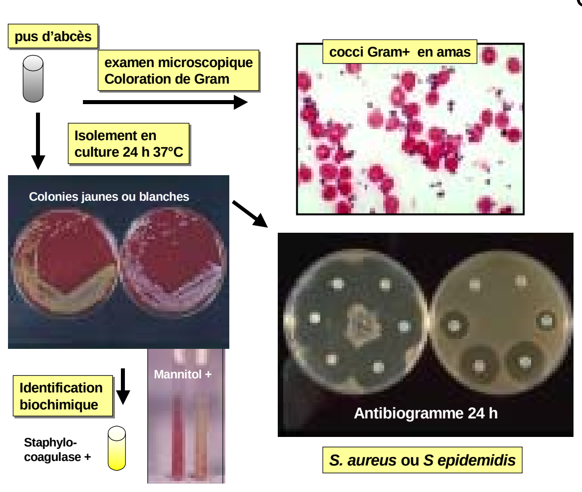
Galeries API



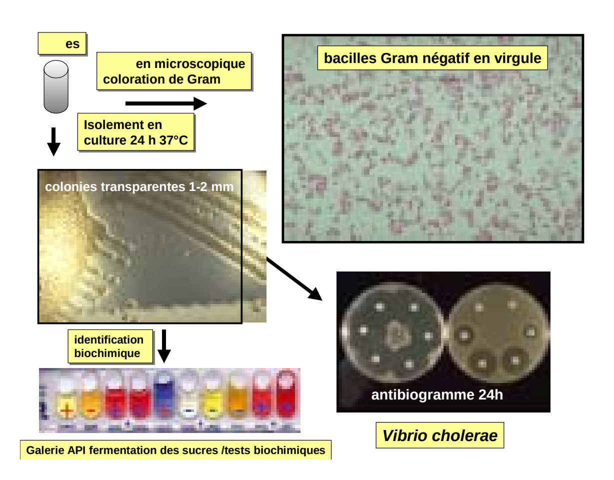


Exemples :

Isolement et identification de *S aureus*



Isolement et identification de *V cholerae*



Identification de la souche

Dans un but épidémiologique, on est amené à préciser l'identité de la souche en cause:

- la constitution antigénique du pathogène : d'après les antigènes du lipopolysaccharide (LPS) pour les bactéries à Gram - , des polyosides capsulaires, des protéines d'enveloppe externe , permettant ainsi le sérotypage par agglutination avec des sérums spécifiques.

Détermination du sérotype (sérogroupe ou sérovar)



Détermination du profil génétique de restriction d'une souche bactérienne

- la sensibilité à une batterie de phages permet aussi de définir des lysotypes (lysotypie).
- Les techniques de biologie moléculaire donnent de nouveaux outils épidémiologiques permettant de définir avec la précision des ''empreintes digitales'' la singularité d'une souche bactérienne. Les techniques les plus utilisées sont électrophorèse en champ pulsé (PFGE), ribotypage et random PCR. Ces techniques sont très utilisées pour détecter des épidémies (voir Figure en fin de chapitre).

Antibiogramme

L'antibiogramme définit in vitro la sensibilité des bactéries pathogènes. On utilise largement la méthode des disques, qui permet de voir le diamètre d'inhibition de croissance autour des disques imprégnés d'antibiotiques.Cette méthode standardisée donne de bons résultats en pratique. Elle peut être complétée par des méthodes plus sophistiquées telles que la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides. On définit ainsi un phénotype de résistance naturel ou acquis.

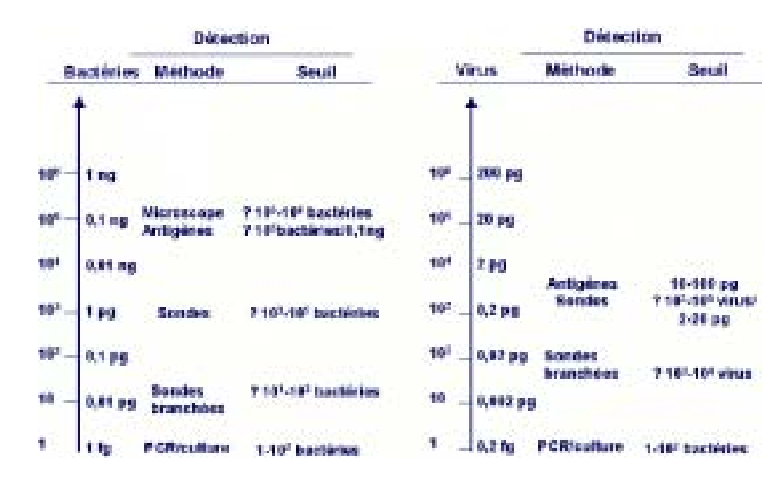


Antibiogramme par la méthode des disques

L'ensemble de ces techniques classiques permet la plupart du temps de résoudre le problèmes courants et de classer les bactéries sur des critères objectifs et reproductibles, et de définir le genre et l'espèce de chaque bactérie pathogène , ce qui guide l'antibiothérapie.

Apport des méthodes moléculaires au diagnostic

Les méthodes de biologie moléculaire peuvent, dans des situations cliniques limitées, améliorer le diagnostic bactériologique direct. Ces méthodes sont basées sur la *polymerase chain reaction* (PCR) qui est utilisée pour détecter des séquences bactériennes spécifiques de certaines bactéries pathogènes. Les avantages principaux de la PCR sont d'augmenter considérablement la sensibilité de détection des microorganismes et de pouvoir déceler des microorganismes éventuellement non viables.



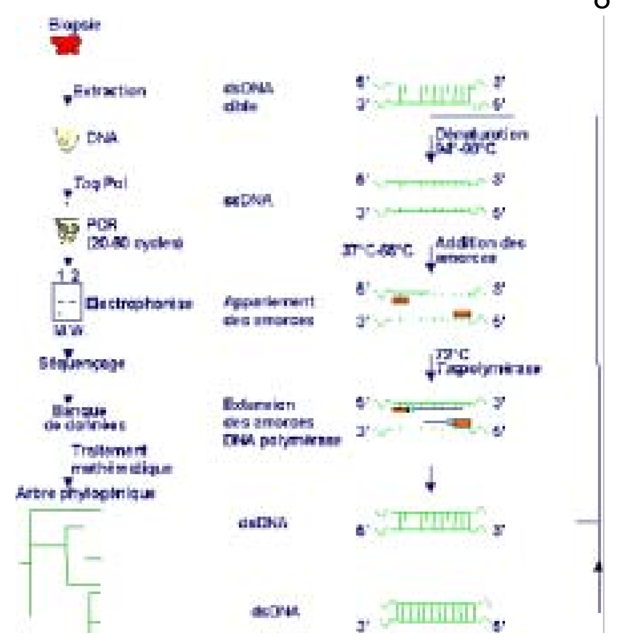
Seuil de détection des principales méthodes utilisées en microbiologie

(1) la PCR pour reconnaître des bactéries suspectées par la clinique :
La PCR utilisant des *primers* spécifiques peut tenter de détecter directement dans les produits pathologiques des fragments de génomes bactériens. C'est un apport important pour le diagnostic des

infections dues à des bactéries à croissance lente, difficile ou impossible :
- *Bordetella pertussis*, agent de la coqueluche, baille Gram négatif à croissance difficile
- les bactéries à croissance intracellulaire stricts : *Chlamydia trachomatis* et *C pneumoniae* responsable d'infections pulmonaires, oculaires et génitales , *Rickettsia* spp (agent des typhus), *Tropheryma whippeli*, agent de la maladie de Whipple
- les mycobactéries de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis, M bovis*) et de la lèpre (*Mycobacterium leprae*)
- les mycoplasmes : *Mycoplasma pneumoniae, Ureaplasma urealyticum*, (responsables d'infections pulmonaires et génitales)
- *Treponema pallidum*, agent de la syphilis La PCR pourrait aussi être utile pour les infections où le diagnostic doit être rapidement établi (méningites), ou pour détecter une résistance aux antibiotiques d'une bactérie à croissance lente, telle que *M. tuberculosis* .

(2) La PCR pour identifier une bactérie inconnue dans les tissus infectés et en culture

L'amplification de séquences de rDNA utilisant des *primers* universels ou de certains gènes bactériens (gènes *sod* de la superoxyde-dismutase, *rpoB* de la RNA polymérase …) avec des *primers* spécifiques, peut être utile dans certains contextes cliniques difficiles, tels que les infections torpides des immunodéprimés. Grâce aux banques de données, on peut identifier une bactérie difficile à classer dans l'arbre phylogénétique.



PCR pour détecter des microorganismes inconnus dans les tissus

Le diagnostic indirect : détection des anticorps spécifiques

Le sérodiagnostic est un appoint au diagnostic direct. Il est très utile dans certains cas.

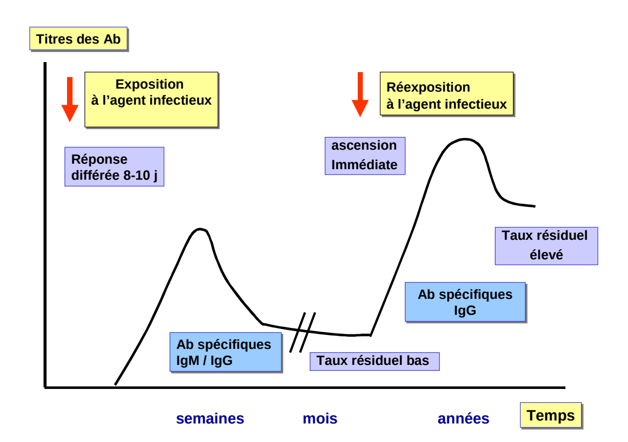
Les meilleures indications sont :

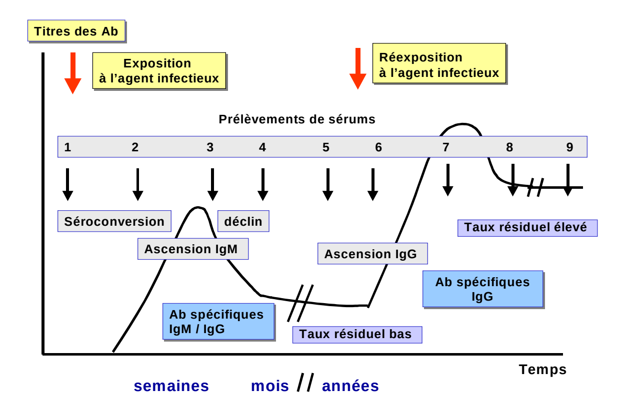
(1) le diagnostic d'une infection due à une bactérie à croissance difficile ou impossible (*Treponema pallidum, Chlamydia, Rickettsia, Leptospira, Borrelia*...),
(2) le diagnostic d'infections décapitées par les antibiotiques (antibiothérapie précoce)
(3) le diagnostic rétrospectif d'une infection récente
(4) les études épidémiologiques cher-chant à déterminer l'impact d'un micro-organisme sur une population

Cinétique de la production des anticorps

La valeur du sérodiagnostic est fortement augmentée par la mise en évidence d' une cinétique de la production des

anticorps. Les anticorps apparaissent en 7-10 j en utilisant les techniques habituelles de détection (agglutination, ELISA…), avec apparition d'IgM spécifiques. Le pic de production est entre 21 et 30 j, les titres diminuant ensuite pour atteindre un taux résiduel (IgG) après 2-3 mois qui persistera des années.





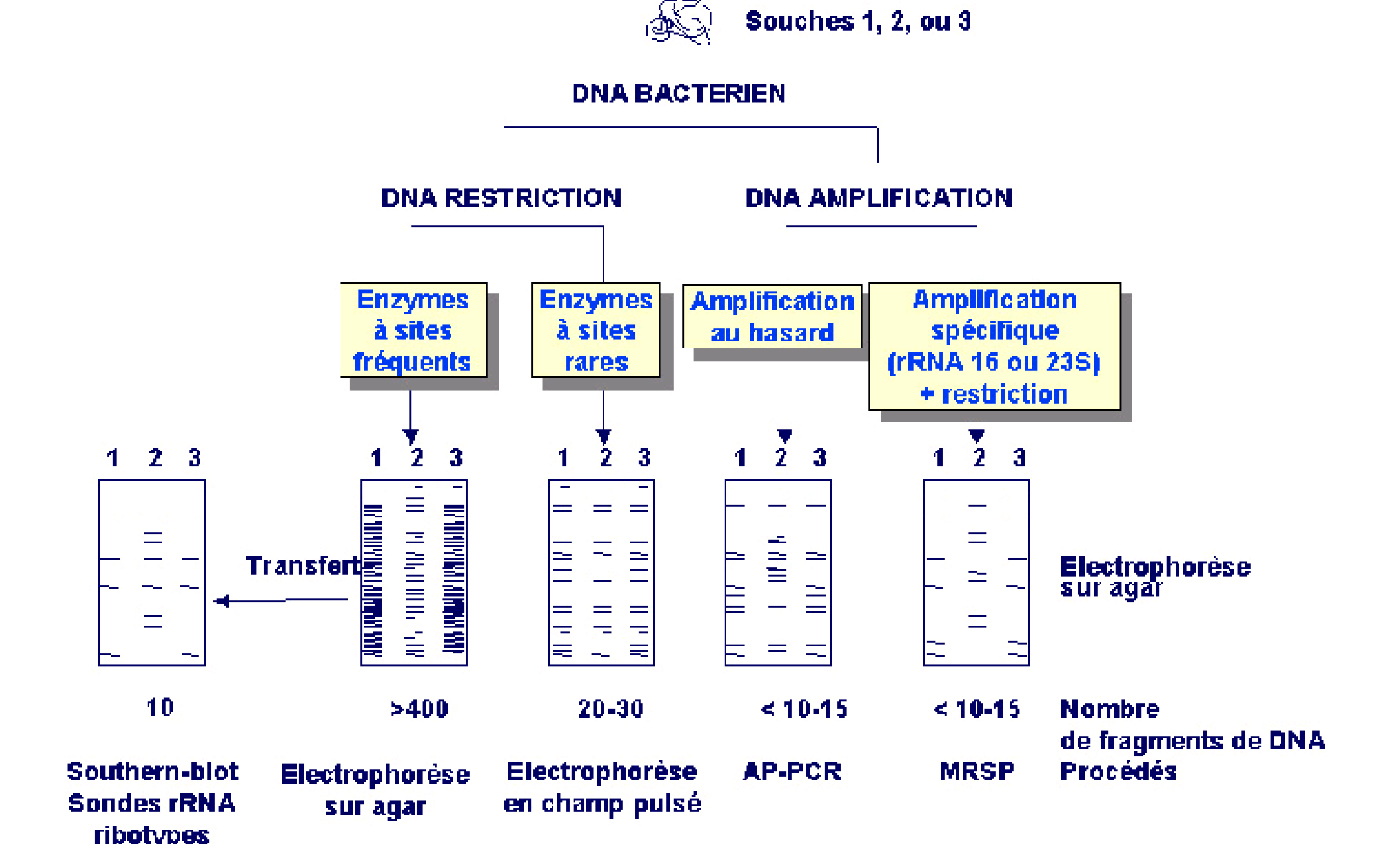
Interprétation du sérodiagnostic

On doit donc pratiquer deux tests sérologiques à 15 jours d'intervalle : un sérum le plus précoce possible après le début clinique (souvent négatif), un sérum tardif 15 jours plus tard. Si ce 2ème test est positif, on parle de séroconversion (apparition d'anticorps spécifiques). La mise en évidence d'une ascension des titres d'anticorps est aussi un bon signe en faveur d'une infection en évolution (souvent une primo-infection). Cependant, il faut garder à l'esprit la possibilité de réactions antigéniques croisées fréquentes avec d'autres bactéries. Le sérodiagnostic est donc un diagnostic de suspicion. Son interprétation attachera une bonne valeur à la détection d'IgM, d'une séroconversion, ou d'une ascension des titres d'anticorps.

Classification très simplifiée des bactéries d'intérêt médical.

Bactéries aérobies	**Gram +**	cocci	*Staphylococcus, Streptococcus S pneumoniae,*
		bacilles	*Corynebacterium, Listeria, Bacillus*
		paroi riches de lipides	*Mycobacterium tuberculosis, M leprae, M bovis, BCG , Nocardia*
	Gram -	cocci	*Neisseria, Moraxella*
		bacilles	*E. coli, Salmonella, Shigella, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Yersinia, Pseudomonas, Vibrio, Campylobacter, Haemophilus, Brucella, Helicobacter*
		bactéries intracellulaires	*Rickettsia , Chlamydia trachomatis, C psitacci, Coxiella, Ehrlichia*
		Bacilles spiralées	*Treponema, Borrelia, Leptospira*
		Bactéries sans paroi	*Mycoplasma*
Bactéries anaérobies	**Flore de Veillon**	Cocci et bacilles	
	Gram –	bacilles	*Bacteroides fragilis , Fusobacterium*
	Gram +	bacilles	*Clostridium tetani, C botulinum, C difficile, C perfringens*

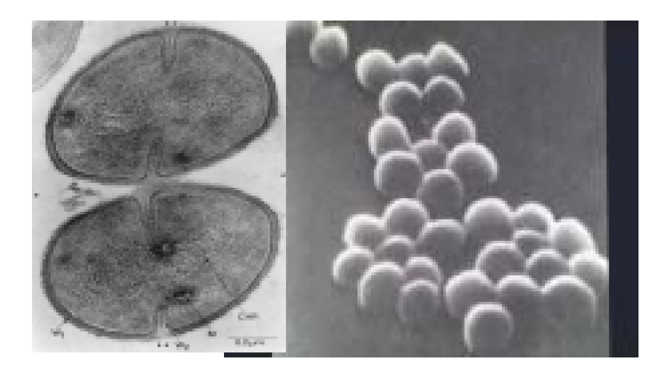
Le principe des principales méthodes d'épidémiologie moléculaire utilisées en bactériologie



Les staphylocoques

Les saphylocoques

Les staphylocoques sont des coques Gram positifs en amas très répandus dans la nature, responsables d'un très grand nombre d'infections chez l'homme et l'animal.



Staphylocoques au microscope électro-nique

Ce sont des bactéries résistantes aux conditions hostiles de l'environnement (chaleur, sécheresse, salinité). Ce sont des bactéries ubiquitaires et saprophytes qui peuvent occasionnellement coloniser la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux. En fait, 50% des sujets normaux sont porteurs de différentes espèces de staphylocoques (nez, gorge, mains, périnée, selles). Certaines espèces ont une virulence particulière du fait de la production de nombreuses toxines et enzymes extracellulaires (*Staphylococcus aureus*). D'autres sont peu virulentes mais souvent à l'origine d'infections nosocomiales (*Staphylo-coccus epidermidis*…). *S aureus* est une des causes majeures d'infections humaines, responsables en milieu communautaire de 1 à 5% des infections observées. En milieu hospitalier, 10 à 20% des septicémies sont dues à *S. aureus*.

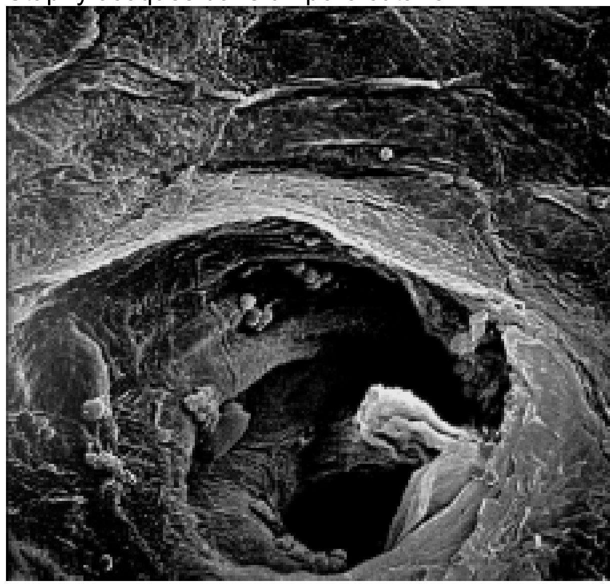
Infections à staphylocoques et épidémiologie

Les infections à staphylocoque doré (*S. aureus*) ont une symptomatologie très polymorphe et sont très fréquentes en milieu hospitalier. Ces bactéries sont souvent résistantes à de multiples antibiotiques qui sont sélectionnés par des antibiothérapies itératives, en particulier chez les patients aux défenses affaiblies. En dehors de *S. aureus*, d'autres espèces dites à coagulase négative sont rencontrées (*S epidermidis*, *S saprophyticus, S haemoly-ticus*), particulièrement responsables d'infections opportunistes en milieu hospitalier.

Les porteurs de *S. aureus*

Dès la naissance, les souches de *S. aureus* colonisent la peau, l'ombilic, le tube digestif, et la région périnéale des nouveau-nés. *S. aureus* est présent de façon intermittente ou permanente sur la muqueuse du naso-pharynx (20 à 40% de porteurs), et chez les femmes dans la muqueuse vaginale (10%). Ce portage augmente en fonction du terrain (diabète, hémodialysés chroniques, héroïno-manes). Les souches de staphylocoque existent dans l'environnement et survivent longtemps, résistant à la dessiccation et aux antiseptiques.

Staphylocoques dans un pore cutané



Les infections à *S. aureus*

Ces infections sont très fréquentes et très répandues dans le monde entier, la plupart du temps d'origine endogène.

Elles peuvent être manuportées d'homme à homme, ou transmises par l'intermédiaire de matériels ou d'environnements contaminés. Les antibiotiques sélectionnent des germes multirésistants.

Infections cutanéo-muqueuses à *S. aureus*

Les infections cutanées à *S. aureus* sont des folliculites, des furoncles, anthrax, des impétigo , surtout chez l'enfant. *S. aureus* est aussi responsables d'infections muqueuses, telles que conjonctivites, infections génitales (salpingites), infections des voies aériennes supérieures (sinusites, otites, mastoïdites, infections pulmonaires).
Les infections pulmonaires peuvent être particulièrement sévères, survenant au décours d'une infection virale (grippe) ou à la suite de manœuvres d'aspiration bronchique ou d'intubation au cours de pneumopathie primitive chez l'immunodéprimé. Chez l'enfant, elles peuvent faire suite à la présence d'un corps étranger. Les lésions pulmonaires sont caractérisées par la formation de multiples abcès pulmonaires d'aspect bulleux d'évolution souvent sévère avec des signes généraux importants. Au décours de l'accouchement, des infections de la glande mammaire (abcès mammaires) sont fréquentes, touchant 1-3% des femmes qui allaitent.

Infections staphylococciques graves

Certaines infections à *S. aureus* sont très graves :

La staphylococcie maligne de la face

Le syndrome de Lyell (syndrome de Ritter : maladie du jeune enfant avec des lésions cutanées bulleuses caractéristiques)



Le syndrome de choc toxique avec diarrhées aqueuses, vomissements, myalgies, céphalées, fièvre à 40°C, rash généralisé, choc hypovolémique (rôle des tampons).
Les septicémies à *S. aureus* sont la conséquence de la dissémination des germes à partir d'un foyer localisé et peuvent survenir chez le non immunodéprimé, favorisées par des traumatismes locaux, des corps étrangers (cathéters, sondes, interven-tions chirurgicales, brûlures étendues, traumatismes vasculaires répétés). Une infection sous-jacente est présente dans 2/3 des cas (diabète, insuffisance rénale chronique, leucose, cancer, hépatite chronique, immunodépression). Il faut noter la fréquence des métastases septiques (poumons, rate, foie, cerveau, reins, muscles, os, articulations, endothélium vasculaire, séreuses).
Comme les septicémies, les endocardites staphylococciques sont particulièrement graves. Le pronostic global des septicémies est 20% à 30% de mortalité malgré le traitement antibiotique et la possibilité d'évolution vers la chronicité (ostéite...) posant des problèmes thérapeutiques difficiles.

Infections digestives à *S. aureus*

Intoxications alimentaires

Ce sont des intoxications alimentaires après ingestion d'aliments contaminés : incubation courte de 3 à 6 h, contexte non fébrile, vomissements, diarrhées abondantes, douleurs abdominales,

céphalées. Durée 24 à 48 h et d'évolution rapidement favorable.

Entérocolites aiguës pseudomembraneu-ses

Ces entérocolites aiguës d'évolution sévère font partie de la pathologie nosocomiales avec diarrhée intense et déshydratation rapide d'évolution fatale.

Infections nosocomiales à staphylocoque à coagulase négative

S. epidermidis, germe commensal des muqueuses et de la peau, représente 65 à 90% des souches de staphylocoques isolés de la flore normal de l'homme. *S. saprophyticus* est plus rarement rencontré en pathologie nosocomiale, de même que *S. haemolyticus et Staphylococcus hominis* (rarement rencontrés). Les infections à *S. epidermidis* sont rencontrées chez les sujets sous antibiothérapie, souvent porteurs de matériels prothétiques, ou de cathéters, aux défenses immunitaires affaiblies. Il s'agit d'infections localisées au foyer initial qui peuvent se compliquer de bactériémies intermittentes, en général sans localisation métastatique.

Infections urinaires à staphylocoque

Les infections urinaires à staphylocoque ne sont jamais *S. aureus*. La plupart du temps, il s'agit de l' espèce *S. saprophy-ticus*, entraînant une infection de la jeune femme avec cystite et pyurie, pyélonéphrite dans 50% des cas. L'évolution est rapidement favorable avec récidive possible.

S. warneri est rencontré dans certaines infections humaines (septicémies, endocardites, conjonctivites, infections urinaires).

Les staphylocoques sont des patho-gènes majeurs des animaux

S aureus, ainsi que d'autres espèces (*S.intermedius*, *S.hyicus*), sont des pathogènes majeurs des animaux : furonculoses du chien (*S. intermedius*), mammites des vaches, brebis et chèvres (*S. aureus* le plus souvent), la maladie des abcès du mouton (*S. aureus* sous-espèce *anaerobius*) ou encore la dermite exsudative du porcelet (*S. hyicus*)…

Physiopathologie et immunité

Les infections à staphylocoques de la peau et des muqueuses sont favorisées par-des facteurs locaux ou généraux. Toute lésion, même minime du revêtement cutané, permet une colonisation des tissus par les souches de *S aureus* (excoriations, traumatismes, blessures, brûlures, piqûres, incisions chirurgicales...). Il faut insister sur le rôle favorisant d'un corps étranger et des antibiothérapies à large spectre sélectionnant des staphylocoques multi-résistants, et sur la gravité des infections à staphylocoque chez les sujets aux défenses amoindries: immunodépression acquise (virale, chimiothérapie) ou congénitale, ou encore malades atteints d'affections chroniques (diabète, mucoviscidose, cancer, alcoolisme, insuffisance rénale chronique). Les lésions tissulaires sont caractérisées par une réaction inflammatoire intense, avec présence de nombreux leucocytes et prolifération microbienne. Les lésions évoluent vers la nécrose, avec tendance à l'abcédation avec extension rapide aux vaisseaux de voisinage (thrombophlé-bites) à l'origine d'une dissémination bactérienne par voie sanguine et de la formation de métastases.

Virulence de *S. aureus*

La virulence de *S. aureus* est due à la sécrétion de multiples toxines et enzymes, qui contribuent diversement à l'expression du pouvoir pathogène. Certaines structures pariétales, dont le peptidoglycane, aurait des propriétés pro-

inflammatoires d'endotoxines, de même que la protéine A qui fixe le fragment Fc des immunoglobulines, ainsi que les polyosides capsulaires de certaines souches qui auraient un rôle anti-phagocytaire.

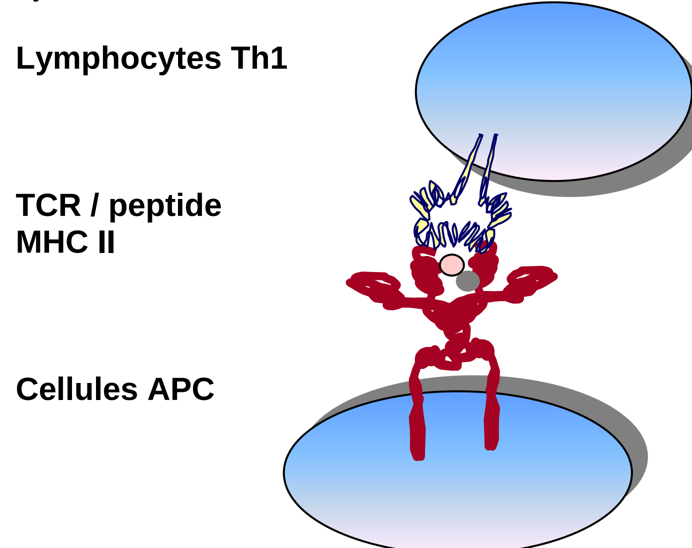
Enzymes et toxines sécrétées par les staphylocoques

S. aureus est capable de produire un grand nombre d'enzymes et de toxines :

Enzymes
- enzymes capables de dégrader le tissu conjonctif (hyaluronidase lipase, estérase) jouant un rôle dans la diffusion tissulaire
- enzymes dégradant les membranes et leurs composants (phospholipases et lipases), les protéines (protéases)
- une staphylo-coagulase responsable de la formation d'un caillot endoveineux au site de la thrombophlébite
- une protéine capable de lyser le caillot: les staphylocoques sécrètent aussi La fibrinolysine ou staphylokinase, qui contribue à la dislocation du caillot et à la dissémination de d'embols septiques.

Exotoxines
- les staphylolysines (α, β, γ, δ) capables d'attaquer les membranes : ces toxines cytolytiques sont des leucocidines dermonécrotiques et antiphagocytaires
- la leucocidine de Panton et Valentine (LPV)
- les exfoliatines A et B
- les entérotoxines A, B, C_1, C_2, D et E
- la toxine du choc toxique staphylo-coccique TSST-1.

Certaines toxines agissent localement (staphylolysines, LPV) , d'autres toxines diffusent à distance du foyer initial et expliquent la symptomatologie (exfolia-tines, TSST1…).
S. aureus produit un nombre important de toxines à activité superantigène (exfoliatines A et B, TSST-1, entérotoxines A, B, C_1, C_2, D et E…). Ces superantigènes se lient au complexe TCR- MHC II qui est associé aux peptides de présentation par les cellules présentatrices aux cellules T. Cette insertion se fait aux domaines Vβ du TCR et aux molécules MHC II, déclencvhant une forte production de cytokines.



Les syndromes cliniques liés aux exotoxines de *S aureus*

Les entérotoxines (SE)

On en connaît 6 ou 7 sérotypes différents les entérotoxines SE : A, B, C_1, C_2, D et E, SEA et SED étant les plus souvent en cause. Ces toxines sont codées par le chromosome. L'action des entérotoxines porte sur le tube digestif en intervenant sur le système nerveux central : vomissements et diarrhée. Elles exercent aussi un effet mitogène sur les lymphocytes et stimulent la production d'interféron.

Toxi-infections alimentaires

Les toxi-infections alimentaires sont provoquées par l'ingestion d'aliments contenant de la toxine. L'incubation est généralement de 3 heures puis apparaissent des vomissements, de la diarrhée et rarement un collapsus. Les produits laitiers, les viandes sont les plus souvent en cause, souillés par un personnel porteur de staphylocoque. L'évolution est généralement favorable en quelques heures, les formes graves avec choc étant l'apanage des terrains

particuliers. L'antibiothérapie ne semble pas influencer l'évolution.

Scarlatine staphylococcique

Elle se rencontre chez le jeune enfant et fait suite a une suppuration volontiers chirurgicale: ostéomyélite, arthrite, abcès. L'hémoculture est souvent positive. Le tableau clinique est semblable à la scarlatine streptoco-ccique, sinon par la présence d'un foyer suppuré. Les toxines produites par les souches sont les entérotoxines (SEA, SEB, SEC, SED) et la TSST-1. Ces toxines sont également impliquées dans le syndrome de choc toxique staphylococcique qui comporte une éruption scarlatiniforme et dont on connaît l'existence de formes incomplètes. Le traitement et le pronostic sont ceux de l'infection causale, c'est-à-dire d'une infection staphylococcique sévère.

Les exfoliatines

Il existe en fait 2 toxines épidermo-lytiques ou exfoliatines : l'exfoliatine A chromosomique et l'exfoliatine B plasmidique. Les souches de *S. aureus* productrices d'exfoliatine représentent 2 à 25 % des souches isolées en Europe et aux Etats-Unis. Leur mode d'action sur l'épiderme est mal connu. Il existerait dans l'épiderme du nouveau-né un récepteur spécifique de l'exfoliatine masqué chez l'adulte. L'exfoliatine atteint la zone granuleuse de l'épiderme en diffusant à travers les capillaires du derme et est à l'origine du décollement intradermique. Ce sont des superanti-gènes expliquant la survenue de manifestations systémiques.

Syndrome d'exfoliation généralisée

Le syndrome d'exfoliation généralisée, ou syndrome de la peau ébouillantée et le syndrome de Lyell sont 2 entités cliniques différentes: pour le syndrome de la peau ébouillantée, le décollement cutané se fait par clivage de la partie superficielle de l'épiderme au niveau de la couche granuleuse alors que, pour le syndrome de Lyell toxique, le clivage est plus profondément au niveau du corps muqueux. Cliniquement, le syndrome de la peau ébouillantée se rencontre chez l'enfant, parfois chez l'adulte immuno-déprimé ou insuffisant rénal. Le foyer staphylococcique peut être ORL, conjonctival ou cutané. Le staphylocoque n'est pas présent dans les bulles. La maladie débute par de la fièvre et un exanthème scarlatiniforme dominant au visage, aux régions péri-orificielles - en particulier la région péri-narinaire- et aux plis. L'exfoliation se fait en quelques heures et provoque un décollement des zones érythémateuses soit spontané, soit à la suite de traumatisme. Les muqueuses ne sont habituellement pas atteintes. La guérison survient en 6 à 12 jours. Les complications sont rares et la mortalité très faible. Le syndrome de Ritter représente la même affection chez le nouveau-né. Le foyer primitif est souvent une omphalite, une circoncision infectée, une conjonctivite, une rhinite. Les complications sont plus fréquentes, notamment choc septique ou staphyloco-ccie pleuro-pulmonaire. Ces 2 affections relèvent d'une antibiothérapie par voie générale non ciblée sur les staphylocoques methicilline-résistants (SAMR) ainsi que d'une réanimation hydro-éléctrolytique dans les formes sévères.

Impétigo bulleux

L'impétigo bulleux est constitué d'un nombre variable de bulles à contenu trouble, contenant le staphylocoque (producteur d'exfoliatine) qui siègent surtout aux extrémités. Elles évoluent vers l'ouverture et la formation d'ulcérations, puis de croûtes. La cicatrisation se fait en une semaine environ. Il s'agit d'une affection bénigne qui justifie simplement une antibio-thérapie orale. On pense que la présence d’anticorps ou non contre l’exfoliatine expliquerait la différence de gravité des

syndromes cliniques. En présence d'anticorps, la toxine reste localisée in situ provoquant un impétigo bulleux. En l'absence d'anticorps, la toxine diffuse et entraîne un syndrome de Ritter ou un syndrome d'exfoliation généralisée.

La toxine TSST-1

La toxine TSST-1 du syndrome de choc toxique staphylococcique est d'origine chromosomique, pyrogène et létale. C'est un superantigène à forte activité mitogène pour les lymphocytes T avec production d'interleukines, ce qui joue un rôle dans la pathogénie du syndrome de choc toxique . La TSST-1 entraîne la formation d'anticorps dont la fréquence augmente avec l'âge (85 % à 30 ans). Le syndrome de choc toxique staphylococcique est affection aiguë associant de la fièvre, un rash scarlatiniforme évoluant vers la desquamation, un choc et des signes d'atteinte multiviscérale. D'abord décrit chez des femmes utilisant des tampons vaginaux, il peut en fait survenir à tout âge, notamment chez l'enfant. La definition du syndrome est clinique, associant fièvre, éruption scarlatiniforme, desquamation, et choc toxique avec insuffisance rénale aiguë. La TSST-1 n'est retrouvée que chez 50 à 60 % des souches, les entérotoxines peuvent également être impliquées dans ce syndrome. La guérison est généralement rapide. La mort est possible par fibrillation ventriculaire ou hypoxémie réfractaire. Le traitement du choc associé à l'antibiothérapie repose sur le remplissage vasculaire, les vasopres-seurs et sur le traitement symptomatique des atteintes viscérales.

La leucocidine de Panton et Valentine (LPV)

Cette toxine est produite par moins de 5 % des staphylocoques, comportant 2 composants F et S. Elle se fixe sur les granulocytes et les érythrocytes humains et crée des pores dans la membrane cellulaire, résultant une dermonécrose inflammatoire. Son mode d'action fait intervenir une stimulation exagérée et une lyse des granulocytes. La leucocidine de Panton et Valentine est produites par des souches responsables d' infections cutanéo-muqueuses : furon-culoses (> 90 % des souches produisent LPV) et pneumopathies nécrotico-hémorragiques à *S aureus*, touchant le grand enfant ou le jeune adulte, très grave avec leucopénie et dont l' évolution est souvent fulgurante et mortelle dans un tableau associant insuffisance respiratoire aiguë et choc (85 % des souches produisent LPV).

Génétique des gènes de virulence de *S aureus.*

Le génome de *S. aureus* (2,8 Mb) est composé d'un mélange complexe de gènes dont un grand nombre semble avoir été acquis par transfert latéral de gènes. La plupart des gènes de résistance aux antibiotiques sont transportés par des éléments génétiques mobiles ou des plasmides. Trois classes de nouveaux îlots de pathogénicité ont été identifiées : (1) un îlot de toxines de la famille du toxic shock syndrome, (2) des îlots d'exotoxines ; (3) des îlots d'entérotoxines.

Immunité anti- staphylocoque

Les staphylocoques sont des bactéries à multiplication extracellulaire qui sont habituellement détruits par des polynucléaires et des macrophages recrutés au foyer initial d'infections. L'immunité anti-staphylococcique est liée à la présence d'anticorps opsonisants qui favorisent la phagocytose par les polynucléaires et les macrophages, et est associée à la production d'anticorps neutralisant anti-toxines et anti-enzymes. Il existe une forte immunité naturelle contre le staphylocoque, qui est stimulé sans arrêt au cours de la vie.

Diagnostic bactériologique

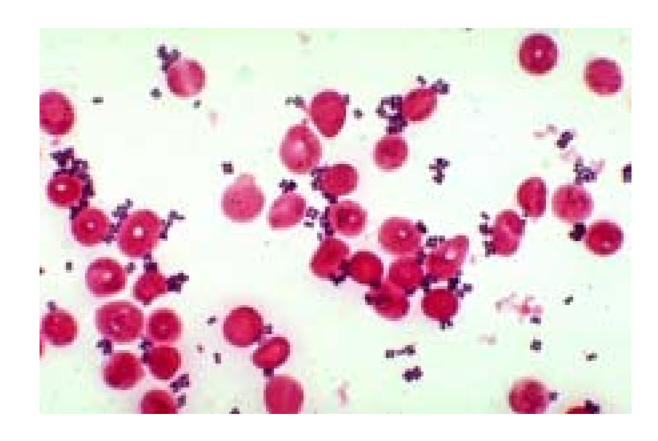
Le diagnostic repose sur la mise en évidence du germe dans les produits pathologiques par l'examen microscopique direct et la mise en culture.

Prélèvements

L'existence de staphylocoques dorés à l'état commensal sur la peau et les muqueuses rend difficile l'interprétation du diagnostic. Il convient donc d'insister sur les conditions rigoureuses de recueil de prélèvements. L'examen microscopique direct du pus montre une pullulation de germes, avec une réaction inflammatoire aux polynucléaires. Les prélèvements de sang, d'urines, de collections fermées permettent de mettre en évidence facilement le germe à l'examen direct.

Isolement et identification en culture

Les staphylocoques sont des coques Gram positif, sphériques, de 1 μ de diamètre, en diplocoque ou en petit amas, immobiles, asporulés, sans capsule habituellement.



Staphylocoques dans une hémoculture (coloration de Gram)

C'est un germe aéro-anaérobie, à métabolisme respiratoire et fermentaire, cultivant facilement en 24 heures sur milieu ordinaire ou sur des milieux sélectifs (hypersalés). Ils croît en donnant des colonies *smooth* de 1 à 4 mm de diamètre souvent associées à un pigment jaune, et hémolytiques sur gélose au sang. Ils sont catalase positifs.



Colonies de *S aureus* (gauche) et *S epidermidis* (droite).

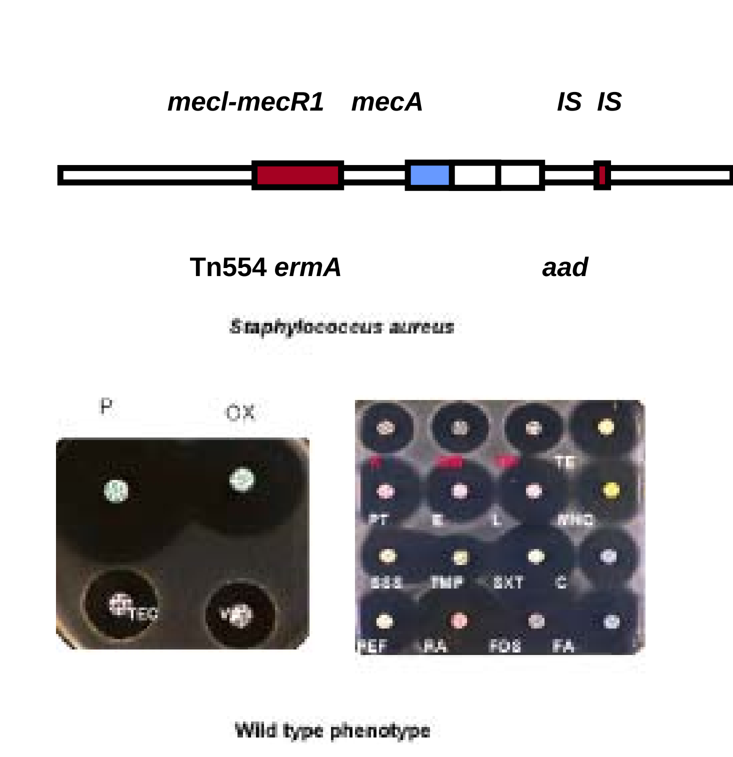
S. aureus fermente le mannitol et produit de nombreuses enzymes extracellulaires (staphylocoagulase, DNAse), ainsi que la protéine A de paroi qui est caractéristique de l'espèce *S. aureus*. Les autres espèces, *S. epidermidis, S. saprophyticus,* ne produisent pas d'enzymes (staphylocoques à coagulase négatifs) et n'ont pas de protéine A pariétale. Ils sont différenciés par leurs caractères métaboliques. Enfin, les laboratoire de références peuvent mettre en évidence la présence des gènes codant pour les différentes toxines de *S aureus* et éventuellement les anticorps anti-toxines par ELISA.

Résistante à la méthicilline et à la vancomycine de *Staphylococcus aureus*

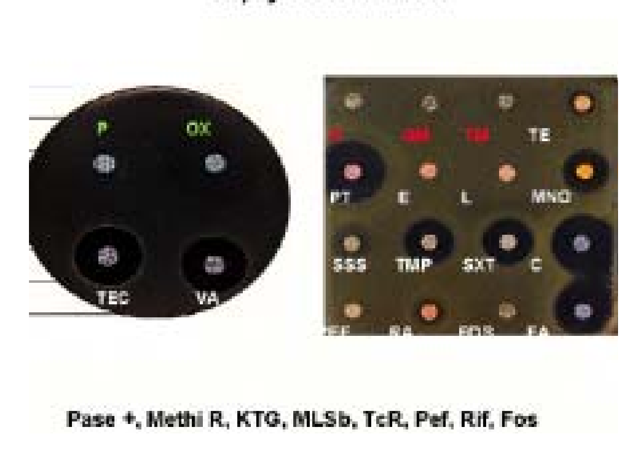
En 1941, toutes les souches de *S aureus* semblaient sensibles à la pénicilline G. Dès 1944, est apparue une pénicillinase qui maintenant concerne plus de 95% souches cliniques. En 1960, est apparue une résistance à la méthicilline, antibiotique majeur résistant à la pénicillinase. Cette résistance entraîne la résistance à toutes les pénicillines et céphalosporines, et souvent associée à de multiples autres résistances (

aminosides, érythromycine, tétracycline...)
 Actuellement, 25% des souches (de *S aureus* sont résistantes à la méthicilline. Cette résistance est surtout rencontrée en milieu hospitalier et présente une forte clonalité. Elle est rare en milieu communautaire.
Il existe 4 mécanismes de résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus*: (1) inactivation enzymatique de l'antibiotique; (2) altérations des PBPs ; (3) efflux des antibiotiques prévenant l'accumulation toxiques des antibiotiques intracellulaires ; (4) expression d'une nouvelle cible remplaçant la cible habituelle (PBP). Ces résistances sont souvent codées par des plasmides ou des transposons

La résistance à la méthicilline (dites MRSA Methi-R *S. aureus*) est codée par le gène *mecA* . Ce gène code pour une nouvelle PBP2a (78 kDa) qui permet la synthèse d'un nouveau peptidoglycane. le gène mecA est porté par un transposon. Il proviendrait de *Enteroco-ccus hiriae* , dont les PBP5 - PBP3 présentent des homologies avec PBP2a de *S. aureus*.



Wild type phenotype



Pase +, Methi R, KTG, MLSb, TcR, Pef, Rif, Fos

Sérodiagnostic

La détection d'anticorps spécifiques est rarement utilisée en pratique. On peut rechercher des anticorps contre les staphylolysines et les acides téichoïques.

Traitement

Les infections à staphylocoques posent des problèmes thérapeutiques difficiles du fait de la fréquence des souches multi-résistantes aux antibiotiques.

S. aureus

90% des souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G, du fait de la production d'une pénicillinase. Un pourcentage important de souches résistent à d'autres antibiotiques tels que tétracycline (20-80%), érythromycine, lincomycine et aminosides. Ces résis-tances sont plasmidiques par sécrétion d'enzymes inactivant les antibiotiques. Un autre type de résistance d'origine chromosomique et transmissible a été décrit, lié à la modification de la cible d'action de l'antibiotique. C'est le cas de résistance à la méthicilline (20 à 40% des souches de *S. aureus*) qui entraîne une réaction croisée avec toutes les pénicillines et les céphalosporines. La plupart des souches restent sensibles à la vancomycine, antibiotique majeur des souches hospitalières de *S. aureus*, à la pristinamycine et à la rifampicine.

S. epidermidis

S. epidermidis, surtout isolé d'infections nosocomiales, est particulièrement résistant aux antibiotiques. Toutes les souches sont résistantes à la pénicilline, et 80% à la méthicilline. La plupart des souches sont multirésistantes, incluant 30 à 50% de résistance à la gentamicine. Restent constamment actives la vancomycine et la rifampicine.

S. saprophyticus

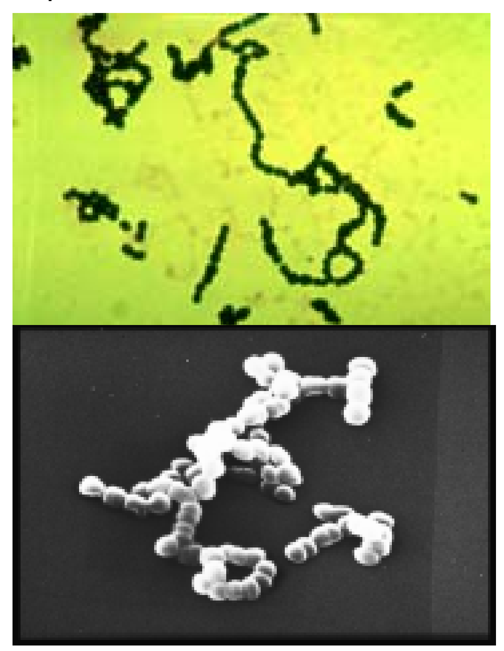
S. saprophyticus est plus sensible aux antibiotiques que *S. epidermidis* et pose plus de problèmes du fait de la sensibilité habituelle à l'amoxicilline et au trimé thoprime-sulfamétoxazole.
Le traitement des infections localisé à la peau et aux muqueuses est d'abord local par les antiseptiques, drainages, ablation de cathéters ou de corps étrangers. Le traitement antibiotique est guidé par l'antibiogramme et basé sur l'utilisation de la méthicilline associée à un aminoside, ou de la vancomycine associée à un aminoside dans les cas graves. L'association céfotaxime-phosphomycine peut être efficace sur les infections sévères à staphylocoques résistants à la méthicilline.

L'importance de la prophylaxie des infections à staphylocoques est l'application de règles strictes d'hygiène et d'asepsie pour prévenir les infections nosocomiales en milieu hospitalier.

Les streptocoques

Les streptocoques

Les streptocoques sont des coques Gram+ en chaînettes, habituellement isolées de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Leur pouvoir pathogène est très polymorphe selon les espèces.



Streptocoques en chaînettes

Ces bactéries aéro-anaérobies fermentent les sucres et sont classées grâce à la structure antigénique du polyoside A (Lancefield) en streptocoques groupables (A, B, D…) et ingroupables Les principales espèces rencontrées chez l'homme sont : *Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus agalactiae, Streptococcus mitis …*, et deux espèces d'un genre proche, *Enterococcus faecalis, Enteroccocus faecium…*

Streptococcus pyogenes

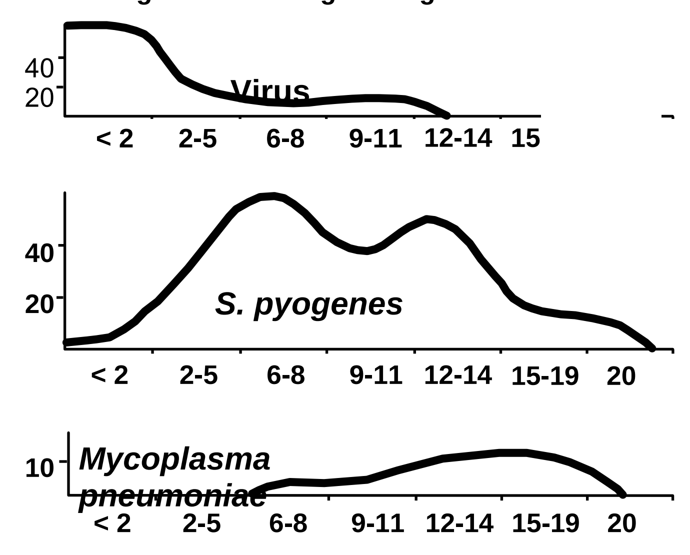
S. pyogenes (ou streptocoque β-hémolytique du groupe A) est une bactérie invasive et toxinogène, à réplication extracellulaire. Cette bactérie strictement humaine forme des coques cci Gram + en chaînettes, constitués d'un polyoside de paroi appartenant au groupe A de la classification de Lancefield. Cette bactérie est transmissible par aérosols et par l'envi-ronnement (lait, aliments, eau). Elle induit des infections fréquentes et graves, répandues dans des infections dans le monde, et très polymorphes, suppuratives (phase où le germe est facilement des produits pathologiques) et post-infectieuses ou non-suppuratives (rhumatisme articulaire aiguë ou RAA, glomérulonéphrites ou GNA, chorée de Sydenham). En dépit de plus de 50 ans d'antibiothérapie, Cette bactérie reste très sensible aux antibiotiques (pénicilline G).

Infections à *S. pyogenes* et épidémiologie

Infections cutanéo-muqueuses suppuratives

(1) L'angine streptococcique : c'est une angine erythémato-pultacée souvent avec fièvre, survenant à partir de 3 ans, le plus souvent transmission par contact direct inter-humain (parfois indirect par nourriture, eau de boisson, lait). Il existe de nombreuses formes asymptomatiques et une forte proportion de porteurs sains dans la population (10 à 20%). Cette angine peut être à l'origine d'une complication éruptive : la scarlatine avec un exanthème caractéristique.

% des angines selon l'âge et le germe

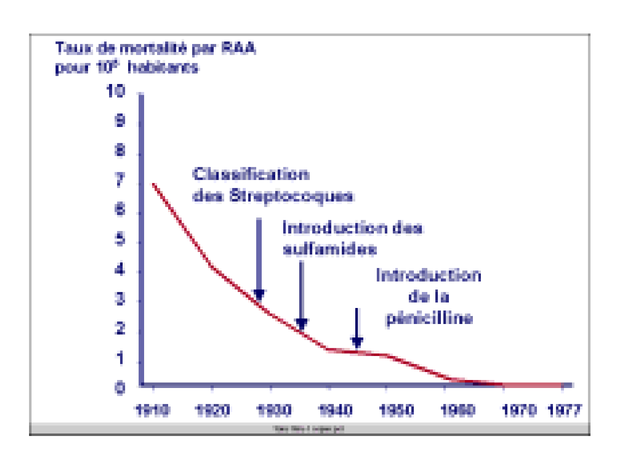


(2) L'impétigo est une infection cutanée pustuleuse très fréquente chez les

enfants de 2 à 5 ans, après transmission directe le plus souvent, rarement par l'environnement . Ces lésions sont favorisées par le manque d'hygiène et par les conditions climatiques (zones sub-tropicales).(3) D' autres infections plus rares sont rencontrées. L'érysipèle est une complication rare et sévère chez des sujets fragilisés (diabète…). On peut aussi voir des broncho-pneumonies, fièvres puerpérales (*cf* Semmelweis) et des cellulites et fasciites nécrosantes (complications post-opératoires redoutables). Ces infections peuvent parfois se compliquer de septicémies.

Complications post-infectieuses non-suppuratives

Le RAA, la GNA et la chorée de Sydenham (danse de Saint-Guy) sont des complications sans prolifération bactérienne, souvent assez sévères et entraînant des séquelles cardiaques et rénales (sauf la chorée qui est de bon pronostic), survenant au décours d'une infection suppurative.



Le RAA atteint surtout les enfants de 5 à 15 ans, et fait suite dans 50% des cas à une angine streptococcique banale (mais dans 50% après portage asymptomatique). Cette complication est relativement rare par rapport à l'exposition : <1% des malades présentant des angines streptococciques. L'incidence aux États-Unis est de 0,5/100 000 h. Dans les pays en voie de développement, c'est un problème majeur de santé publique, avec des incidence allant jusqu'à 80 / 100 000 h et expliquant 25% à 45% des cardiopathies dans ces pays.
survient chez 2 à 6% des malades avec impétigo ou angine. Elle est de bon pronostic. Les récurrences sont rares. Seul un faible nombre de sérotypes M sont impliqués.

Physiopathologie des infections à *S. pyogenes*

S. pyogenes est une bactérie à multiplication extracellulaire, toxinogène et invasive. Les infections suppuratives débutent par la colonisation du revêtement cutanéo-muqueux, souvent asymptomatique, avec attachement aux cellules épithéliales de l'oropharynx et de l'épiderme et éventuellement extension de proximité (trompe d'Eustache, sinus, oreille moyenne, rarement arbre bronchique).L' envahissement tissulaire survient ensuite avec pénétration des bactéries dans la muqueuse induisant une réponse inflammatoire variable selon l'âge et la sensibilité individuelle. Les bactéries peuvent persister dans les ganglions lymphatiques relativement longtemps et produisent une forte réponse humorale et cellulaire, avec production d' Ac anti-paroi (polyoside C, LTA, protéine M) et exotoxines (IgG, IgA locales). L'élimination des bactéries se fait par les polynucléaires après opsonisation.

Avant 2-3 ans, les enfants présente une fièvre avec adénopathies cervicales persistantes, mais peu ou pas de réponse inflammatoire pharyngée (pas d'angine à cette âge). Après 3 ans, l'infection streptococcique donne une angine aiguë avec fièvre, malaise, adénopathies cervicales et complications loco-régionales: mastoidites, ostéomyélites, thromboses, méningites. La dissé-

mination de l'infection peut entraîner une septicémie, avec une porte d'entrée cutanée ou muqueuse, mais souvent inconnue (traumatisme minime..). La fasciite nécrosante est une complication rare et redoutable avec cellulite et myosite extensive, faisant suite à une lésion cutanée, et associée à une septicémie (50%) avec une mortalité élevée (30%). Une complication de ces septicémies est le syndrome de choc toxique survient chez des patients de 20-50 ans après infection locale.

Complications post-streptococciques
Ces complications surviennent au décours d'une infection suppurative, telle qu'une angine aiguë. Leur fréquence est favorisée par le terrain génétique et l'exposition itérative à certaines souches virulentes (protéines M) de *S. pyogenes.*
Le RAA produit des lésions inflammatoires du tissu conjonctif (articulations, endocarde…), caractérisées par une infiltration leucocytaire avec dépôts de fibrine , et des foyers péri-vasculaires avec nécrose centrale et cellules géantes, en l'absence de germes dans le tissu articulaire ou cardiaque. La pathogénèse du RAA est obscure : effets toxiques directs de certains des facteurs de virulence, mécanismes immuno-allergiques (antigénicité croisée entre tissu conjonctif ou cardiaque et facteurs de virulence tels que la protéine M et l'acide hyaluronique avec production d' autoanticorps) ou encore dépôts d' immuns complexes antigènes-anticorps.

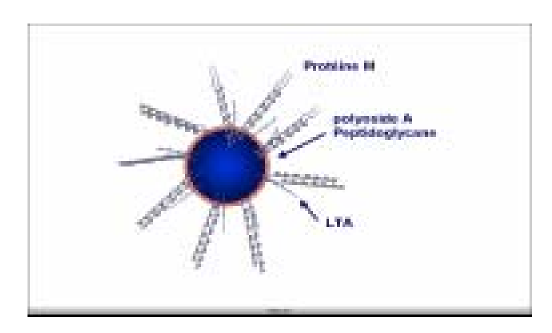
La GNA est une maladie à immuns complexes associée à certaines souches de sérotypes M12 et M 49, notamment, et induit des lésions glomérulaires diffuses et prolifératives

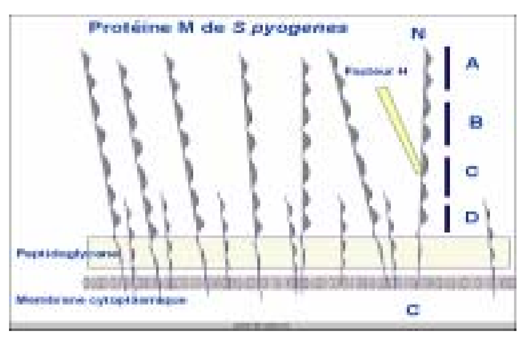
Virulence de *S pyogenes*

S pyogenes produit de nombreux facteurs de virulence.

Facteurs de colonisation

Les acides lipoteichoiques (LTA) joueraient un rôle dans la colonisation initiale. Ce seraient des adhésines fixant le récepteur de la fibronectine, structure fibrillaire associés à la protéine M.
La capsule est constituée d'acide hyaluronique et joue un rôle anti-phagocytaire. Retrouvée sur certaines souches virulentes de sérotype M1 ou M18, la capsule entraînerait des réactions antigéniques croisées avec des antigènes du tissu conjonctif.
Les protéines M sont des protéines trans-membranaires de structure hélicoidale fibrillaire, de 53-73 kDA, avec partie N-terminale exposée variable et C-terminale constante. On connaît plus de 80 sérotypes codés par les gènes *emm*. Ces protéines sont soumises à variation antigénique par recombinaison intra-intergéniques des gènes *emm* , produisant des structures en mosaïque des protéines M. Les protéines M sont exposées en surface jouent un rôle anti-phagocytaire et d'adhésine (avec LTA), et fixent certaines protéines de l'inflammation: fibrinogène, *C4-binding protein*, plasminogène, Fc des IgG et IgA, le facteur H du complément. Les protéines M induisent la production d'anticorps opsonisants protecteurs, qui jouent un rôle majeur dans la protection acquise contre *S. pyogenes*. Les protéines M partagent des déterminants antigèniques avec la myosine et une protéine du sarcolemme du muscle cardiaque, ce qui favoriserait les complications post-streptococciques. En effet, certains sérotypes M sont associés à la scarlatine, au RAA (M12…), à la GNA (M49…), ou le syndrome de choc septique (M18…).





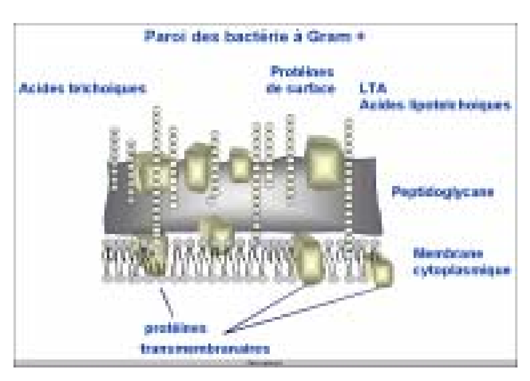
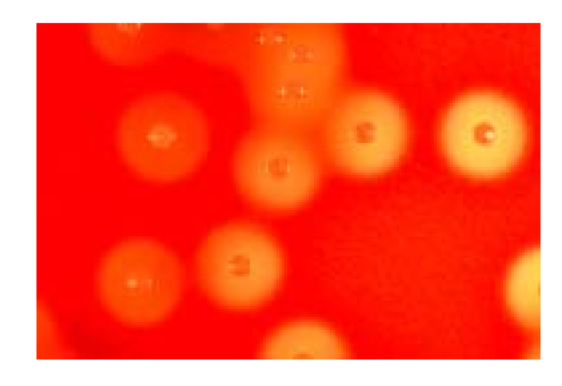


Schéma de la constitution de la paroi de streptocoque

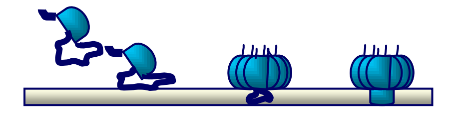
Le peptidoglycane est un polyoside complexe avec un rôle inflammatoire et dermo-nécrotique. Le polyoside A_est un polyoside de paroi non toxique, définissant les groupes selon la classification de Lancefield. Son rôle dans le processus infectieux est inconnu.

Les toxines et enzymes sécrétées par *S. pyogenes*

Les toxines jouent un rôle majeur dans la survie extracellulaire et la diffusion tissulaire des bactéries



Colonies β-hémolytiques sur gélose sang



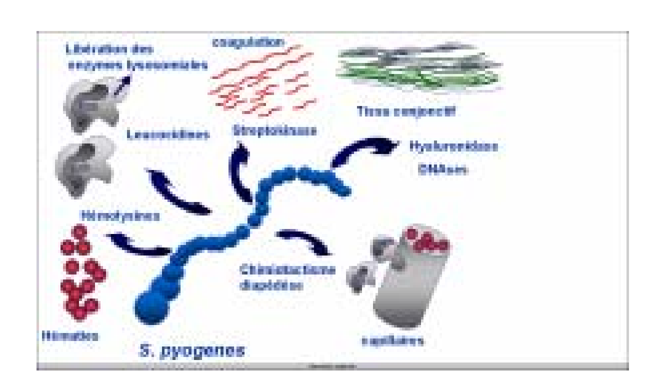
Polymérisation de la SLO formant un pore.

(1) Toxines cytolytique formant des pores
La streptolysine O (SLO) est une exo-protéine de 60 kDa, antigénique et mitogénique (TNF-α, IL-1β). La streptolysine S est un petit peptide non antigénique. Ces 2 toxines sont cytolytiques et sont responsables du halo d'hémolyse autour des colonies.

(2) Exotoxines

Les exotoxines A, B ,C, F sont des superantigènes, se fixant au domaine Vβ du TCR des lymphocytes T et déclenchant la production de cytokines (IL-1, IL-6, TNF-α…). Elles sont codées par *speA, speB, speC speF* , gènes portés par des phages. Ces toxines érythrogènes sont à l'origine de l' éruption de la scarlatine, et sont associées au syndrome de choc toxique.
(3) Les exo-enzymes

Ce sont les streptokinases A, B, C, qui sont fibrinolytiques en activant le plasminogène, la hyaluronidase qui détruit l'acide hyaluronique, les streptodornases qui sont des DNAses, la C5a peptidase qui active le complément, des protéases, NADases, amy-lases, estérases, une α-lipoprotéase (facteur opacifiant le sérum), une neura-minidases. Ces enzymes et toxines contribuent à la diffusion tissulaire.



Diagnostic bactériologique

Prélèvements

Le diagnostic bactériologique repose sur la mise en évidence du germe dans la gorge ou dans les lésions cutanées : prélèvements de gorge ou de lésions cutanées, rarement hémocultures, ganglions lymphatiques, lavage broncho-alvéolaire.

Examen microscopique direct

Il montre la présence de nombreux coques Gram+ en chaînettes, extracellulaires, souvent avec une réaction inflammatoire à des polynu-cléaires.

Isolement et identification en culture

S. pyogenes est constitué de coques à Gram positif en chaînettes, qui croissent sur gélose sang en 24-48 h 37°C, donnant des colonies 1-2 mm β-hémolytiques caractéristiques . Ce sont des bactéries aéro-anaérobies, fermentant les sucres sans gaz, catalase négative, appartenant au groupe polyosidique A de Lancefield

Diagnostic bactériologique indirect : sérodiagnostic

1) Les antistreptolysines (ASLO)

Les ASLO apparaissent au 10ème jour, avec un pic à la 3ème- 4ème semaine, et un taux résiduel pendant 3 à 12 mois. Près de 20 à 30% des patients infectés ne produisent pas d'ASLO détectables. Les formes cutanées ne s'accompagnent pas de production d'ASLO. Dans la population, le titre moyen est : inférieur à 200 UI/mL (UI unités internationales). On considère qu'un titre > 200 UI est significatif.

2) Les antistreptodornases (anti-DNAses B)

Les antistreptodornases sont toujours augmentées lors d'infections cutanées et muqueuses. C'est un test fiable, reproductible, considéré comme le test de référence.

3) Les anticorps anti-hyalorunidases

Ces anticorps augmentés de façon irrégulière et faible.**Interprétation**

S. pyogenes responsable de 15 à 30% des angines aiguës de l'enfant, sur la base de l'isolement du germe dans la gorge et d'une ascension secondaire des anticorps anti-streptolysines-anti-strepto-dornases. Il faut garder à l'esprit pour l'interprétation des résultats de la

fréquence d'isolement d'un streptocoque du groupe A dans la gorge chez les sujets sains du fait du portage. La mise en évidence d'une séroconversion ou d'une augmentation de des anticorps anti-toxines/enzymes authentifie l'infection à streptocoque A.

Traitement

S pyogenes est très sensible aux antibiotiques : la pénicilline G antibiotique de choix 10 jours pour une angine. Il existe quelques souches résistantes à la tétracycline et à l'érythromycine(<5%).

Autres streptocoques d'intérêt médical

Streptocoques C et G

Les streptocoques du groupe C et G sont des streptocoques β-hémolytiques responsables d'infections aiguës des voies aériennes supérieures, de la peau, de l'endocarde et d'infections néonatales. Ces streptocoques peuvent aussi être responsables d'endocardites subaiguës graves avec un pronostic sévère, et parfois de complications post-infectieuses (groupe C), uniquement de type glomérulonéphrites aiguës, jamais de rhumatisme articulaire aigu.
A la différence de *S. pyogenes*, ces germes sont commensaux de nombreux animaux, qui peuvent occasionnellement contaminés l'homme. Les taux de portage chez l'homme sont faibles (< 1 %). L'infection fait souvent suite à une exposition animale. Le diagnostic bactériologique est facile, basé sur l'isolement du germe dans la gorge, où il n'est habituellement pas retrouvé.

Streptococcus agalactiae

S. agalactiae (ou streptocoques du groupe B) est responsable surtout d'infections néonatales et nosocomiales.

Infections à *S. agalactiae* et épidémiologie

S. agalactiae est un commensal du tube digestif et le tractus urogénital , retrouvé chez 5 à 40 % de la population. La colonisation des nouveau-nés est d 'environ 60 % (1-2 % d'infections néonatales).

Les infections du nouveau-né

On estime que *S. agalactiae* représente 2 à 4 % des naissances pour les infections précoces et 1 $^{0}/_{00}$ pour les infections tardives. Les infections du nouveau-né surviennent précocement la plupart du temps avant le 5ème jour de vie, et en moyenne 20 heures après la naissance. La plupart du temps, l'infection est transmise à partir de la flore commensale de la mère. L'enfant présente une infection généralisée avec bactériémie sans signe de localisation, et parfois une pneumonie grave ou une méningite néonatale. Il existe des formes tardives de meilleur pronostic (15-20 % de mortalité), qui apparaissant entre le 7ème jour et le 3e mois avec presque toujours une méningite. Ces infections laissent souvent d'importantes séquelles (30 à 50 %). Les facteurs de risque de mortalité sont la prématurité (50 %), alors que le taux de mortalité est de 20 à 30 % chez l'enfant à terme.

Les infections de la mère

S agalactiae représente 10 à 20 % des bactériémies de l'accouchée et est surtout à l'origine d'infections du post-

partum (endométrites, plus rarement infections cutanées de la plaie).

Les infections opportunistes

S. agalactiae peut être aussi une bactérie opportuniste chez l'adulte fragilisé (diabète, grossesse, cancer...) : infections urinaires, broncho-pneumonies, cellulites, méningites, endocardites, et septicémies. Le diagnostic est fait par hémocultures. La bactériémie est retrouvée dans 90 % des cas.

Physiopathologie et immunité des infections à *S. agalactiae*

S. agalactiae est commensale du tube digestif et les voies génitales de la femme. Les nouveau-nés se contaminent lors de l'accouchement, soit par voie ascendante par rupture prématurée des membranes, soit lors de l'accouchement. Les bactéries sont inhalées et ingérées par l'enfant qui est colonisé dans près de 60 % des cas. L'infection est asymptomatique la plupart du temps, et la maladie n'apparaît que chez 1 ou 2 % des enfants avec une atteinte pulmonaire au premier plan (pneumonie avec détresse respiratoire) ou bactériémie. L'apparition d'une infection cutanée est liée surtout à la virulence des souches et à l'inoculum.

On décrit 3 sérotypes capsulaires : le sérotype III est associé aux infections néonatales avec méningite, alors que les sérotypes I (Ia, Ib, Ic) et II sont rarement rencontrés chez le nouveau-né comme responsable d'infections graves. La capsule est un facteur de virulence inhibant l'opsonisation. Certaines souches produisent des toxines de type β-hémolysine et neuraminidase, et des enzymes extracellulaires favorisant l'envahissement tissulaire.
Les facteurs de risque d'infection par *S. agalactiae* sont : (1) la prématurité du fait de l'absence d'anticorps maternels transmis avant la 37ème semaine et de la faible synthèse du complément chez les prématurés ; (2) la rupture précoce des membranes avec un travail long entraînant une infection de la cavité utérine.
L'immunité contre cette bactérie extracellulaire est de type humoral avec des anticorps protecteurs dirigés contre la capsule spécifique.

Diagnostic bactériologique des infections à *S. agalactiae*

Prélèvements et examen microscopique

La bactérie peut être mise en évidence à partir des prélèvements de liquide céphalorachidien, de sang , à partir des prélèvements bronchopulmonaires ou de foyers suppuratifs (abcès profonds).A l'examen microscopique des prélèvements, *S. agalactiae* est un coque Gram positif en chaînettes. Chez le nouveau-né, on peut rechercher dans le LCR des antigènes solubles avec des anticorps spécifiques (test latex ou ELISA).

Isolement et identification en culture

S. agalactiae croît rapidement sur milieux riches (gélose au sang), donnant des colonies β-hémolytiques. On peut utiliser des milieux sélectifs (gélose au sang additionné d'antibiotiques (acide nalidixique, colimycine). *S. agalactiae* est identifiée par des caractères biochimiques particuliers et par son groupage (groupe B de Lancefield). On définit 5 sérotypes capsulaires: Ia, Ib, Ic, II et III. Le sérotype III est le plus virulent.

Traitement des infections à *S. agalactiae*

Le traitement est basé sur l'utilisation de pénicilline G ou d' ampicilline pendant 2 à 3 semaines, associés aux aminosides. On peut aussi utiliser la vancomycine ou le chloramphénicol (en cas d'allergie à la pénicilline).

Entérocoques et streptocoques ingroupables (streptocoques D)

Les streptocoques du groupe D et les streptocoques ingroupables sont un ensemble très hétérogènes de microorganismes, comportant : (1) le genre *Enterococcus*, avec deux espèces importantes *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* ; (2) Les streptocoques ingroupables sont dépourvus de polyoside C pariétal et donc non-typables par la méthode de Lancefield. Ils comportent au moins six espèces pathogènes : *Streptococcus mitior, Streptococcus sanguis, Streptococcus milleri ou anginosus, Streptococcus salivarius, Streptococcus mutans,* l'agent de la carie dentaire, et *Streptococcus morbillorum.*

Ces espèces sont commensales de la flore bucco pharyngée et digestive. Elles sont peu virulentes, mais souvent résistantes à de nombreux d'antibiotiques. Bien que peu virulentes, ces espèces sont capables chez des sujets fragilisés d'envahir les tissus et d'essaimer à distance par voie sanguine. Elles sont surtout à l'origine d'infections nosocomiales, et d'endocardites subaiguës(entérocoques).

Infections à entérocoques et streptocoques ingroupables et épidémiologie

Ce sont des bactéries commensales de la flore buccale et digestive. Certains entérocoques ont une existence saprophyte au contact des plantes. Les streptocoques ingroupables (*S mitior, S. milleri*) sont retrouvés dans la flore fécale (25-50 % des sujets sains), notamment *E. fecalis* (10^7/g habituellement dans le côlon). Beaucoup de ces streptocoques sont dans des écosystèmes complexes de la flore bucco-pharyngée, en particulier *S. mutans*, bactérie associé à la plaque dentaire avec *S. sanguis*, *S. mitior* et *S. anginosus*.

Les infections cutanéo-muqueuses

Il s'agit habituellement d'infections nosocomiales, où les streptocoques de la flore buccale et fécale, sélectionnée par antibiothérapie, infectent des lésions cutanéomuqueuses préexistantes (plaies chirurgicales, blessures, ulcères variqueux, brûlures, gangrènes, lésions périnéales...). Il peut aussi s'agir d'infections des voies respiratoires, buccales ou du tube digestif, en particulier après chirurgie digestive, enfin d'infections urinaires après cathétérisme ou chez les malades porteurs de lithiase (*Enterococcus*). Parmi les streptocoques, *E. fecalis* est le seul à être responsable d'infections urinaires (5-20 % des infections urinaires).

Les endocardites subaiguës

A partir d'un foyer infectieux localisé, à la suite d'une bactériémie, les streptocoques du groupe D et les streptocoques ingroupables peuvent donner des endocardites subaiguës, dont ils constituent la cause majeure. 50% des endocardites sont dues à des streptocoques ingroupables, dont *S. sanguis* et *S. mitior* (2/3 des cas), *S. mutans* (14 %) et *Enterococcus* spp (10 à 20 %).

Ces endocardites surviennent chez des patients ayant des lésions valvulaires préexistantes, â la suite d'une bactériémie déclenchée par une manœuvre instrumentale, abdominale ou urinaire, une avulsion dentaire ou une infection cutanée banale. Après deux semaines

d'incubation, l'endocardite est cliniquement suspectée sur une fièvre modérée, rémittente (38°C-39°C), s'accompagnant de sueurs nocturnes, frissons, perte de poids, malaise (endocardite d'Osler). Toute fièvre chez un cardiaque doit faire pratiquer des hémocultures (3-6 / jour). A l'examen clinique, on note des modifications des bruits du cœur, une splénomégalie, et parfois des complications à distance (pétéchies, nodules sous-cutanés, ostéoarthropathie hypertrophiante...).

Physiopathologie et immunité des infections à entérocoques et streptocoques ingroupables

Endocardites

A la suite d'un geste agressif (avulsion dentaire, cathétérisme...), les bactéries accèdent à la circulation sanguine (bactériémie) et infecte les valves cardiaques. La greffe bactérienne est favorisée par les lésions préexistantes rhumatismales et athéromateuses. Les lésions induisent un thrombus avec agrégats plaquettaires au contact duquel les bactéries s'implantent. Des facteurs bactériens d'adhésion favorisent la colonisation, en particulier la sécrétion de dextrane par les bactéries. La sécrétion d'enzymes protéolytiques favoriserait la diffusion bactérienne dans l'endocarde. Les bactéries se multiplient donc dans les valves cardiaques mal vascularisées à l'abri du système immunitaire, et entraînent l'apparition de végétations formées de stratifications successives de fibrine et de couches de bactéries. Le nombre des bactéries dans les végétations peut atteindre 10^8 à 10^{10} /g d'endocarde. Les bactéries sont enkystées dans un réseau fibreux sans cellules phagocytaires. Cette exclusion explique la difficulté des traitements antibiotiques.

Les infections cutanéo-muqueuses

Les infections cutanéo-muqueuses à streptocoques du groupe D et ingroupables sont surtout des infections nosocomiales. On pense que les acides lipotéichofques (LTA) favorisent l'adhésion initiale aux lésions épithéliales et, bien sûr, le terrain fragile sur lequel surviennent ces infections. La fréquence de ces infections est aussi liée en partie à leur résistance naturelle aux antibiotiques souvent sélectionnées par les antibiothérapies. L'immunité contre ces streptocoques est essentiellement humorale.

Diagnostic bactériologique des infections à Entérocoques et streptocoques ingroupables

Prélèvements et examen microscopique

Le diagnostic d'une endocardite bactérienne repose sur la recherche des germes par hémocultures (4-6 / 6h). Ces hémocultures sont pratiquées dans des conditions strictes d'aseptie devant tout malade cardiaque, fébrile avant de mettre en oeuvre le traitement antibiotique. Le choix des prélèvements lors des infections cutanéo-muqueuses est fonction de la localisation des foyers infectieux (urines, selles, cathéters…). On découvre dans les bouillons d'hémoculture incubés 1-3 jours à 37°C, des coques Gram + en chaînettes à l'examen direct. Pour les infections urinaires, l'examen direct des urines révèle souvent ces coques Gram + en chaînettes.

Isolement et identification

Les streptocoques du groupe D croissent facilement sur gélose au sang en 24 heures (α-hémolyse ou absence d'hémolyse autour des colonies). Les entérocoques croissent en milieux hostiles en présence de bile et de chlorure de sodium. *E. faecalis* comporte deux biotypes : *zymogenes* (β-hémolytique) et *liquefaciens* (protéo-lytique). Leur identification est basée sur le groupage de Lancefield et sur des caractères biochimiques particuliers, incluant la microaérophilie, l'exigence en C02, la production de dextrane et la fermentation de certains sucres.
Les entérocoques apparaissent actuel-lement comme des pathogènes opportunistes majeurs, et posent des problèmes de multi-résistance aux antibiotiques, en particulier depuis l'apparition d'un plasmide codant pour la résistance à la vancomycine, les gènes impliqués étant porté par un transposon.

Traitement des infections à entérocoques et streptocoques ingroupables

Les entérocoques sont beaucoup plus résistants que les autres espèces de ce groupe, mais restent en général sensibles à la vancomycine et à la rifampicine, alors qu'ils sont souvent résistants aux pénicillines. Il importe donc d'associer plusieurs antibiotiques en cas d'infections à entérocoques.
La majorité des streptocoques ingroupables restent sensibles à la pénicilline G, et ont une résistance à bas niveau aux aminosides (inférieur à 1000 μg/L), ce qui permet leur utilisation en association. Le traitement des endocardites doit être long (6 semaines), à base de pénicilline G (20 millions IV), associée à un aminoside (gentamicine)

Les bactéries des diarrhées aiguës

Les diarrhées aiguës bactériennes

Les diarrhées aiguës bactériennes sont des entérites Inflammatoires d'origine infectieuse, atteignant une partie ou de la totalité du tube digestif (intestin, côlon), due à de très nombreuses causes bactériennes, parasitaires ou virales. C'est la cause la plus fréquente de mortalité chez l'enfant < 5 ans. La transmission se fait par l' eau, les aliments, plus rarement de façon inter-humaine. Leur fréquence est le reflet de la contamination de l'environnement (hygiène collective) et de l'hygiène individuelle. Ce sont des maladie du péril fécal.
Les diarrhées aiguës sont la plus grande cause de mortalité et morbidité infantile dans le monde. Les enfants < 5 ans sont les plus exposés et les principales victimes : par exemple, 7 épisodes par an enfants < 2 ans (Bangladesh, Guatemala, Brésil). L'OMS estime que, parmi les 13 % des enfants < 5 ans, 50 % meurent d'une diarrhée infectieuse, en dépit des progrès de la réhydratation. Les taux de mortalité par diarrhée aiguë sont de 5- 36 % des enfants au 2ème semestre de vie.

Les facteurs de risque sont :

(1) l'état physiologique des populations (la malnutrition) ;
(2) la maturation du système immunitaire (sensibilité des nouveau-nés) ;
(3) le degré d'exposition au microorganisme , la virulence des microorganismes et l' inoculum.
Les doses infectantes orales sont :

Shigella spp	10^{1-2}
Campylobacter jejuni	10^{2-6}
Salmonella typhi	$<10^5$
Salmonella sp	10^8
Campylobacter. Jejuni	10^4
Escherichia . coli	10^8
Vibrio. cholerae	10^8
Giardia lamblia	10^{1-2}
Entamoeba histolitica	10^{1-2}

(4) l'état de réceptivité individuelle liée, en plus des capacité de réponse du système immunitaire, à l'abondance des récepteurs spécifiques sur les cellules intestinales aux ligands bactériens (adhésines, toxines, invasines…). Ceci est attesté par la notion de spectre d'hôte parfois très étroit limité à une espèce (l'homme pour *S. typhi, Shigella, V. cholerae*), parfois plus large (*Salmonella, Campylobacter*), et par des observations chez l'animal : par exemple, pour les souches de E. coli K88 responsables de diarrhées mortelles chez les veaux nouveau-nés, il existe des lignées de bovins très sensibles et d'autres totalement résistants. Ces récepteurs encore mal connu chez l'homme seraient plus ou moins abondant chez les individus et leur cinétique d'expression pourrait varier en fonction de l'âge.

Le diagnostic microbiologique des diarrhées aiguës est parfois difficile du fait de l'existence d'une flore commensale très abondante : la salive contient 10^{5-6} streptocoques/mL, l'estomac < 10 / mL, le duodéno-jéjunum 10^{2-4} / mL, l'intestin grêle 10^{7-8} / mL (anaérobie 10^{11}), le côlon 10^{11} /g (entérobactérie 10^9).

Physiopathologie et épidémiologie des entérites infectieuses.

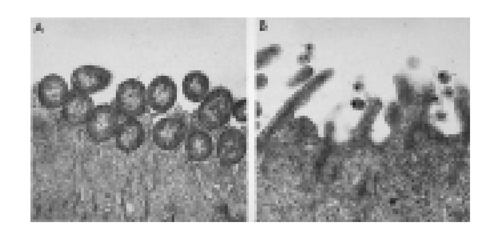
Les bactéries ingérées avec l'eau ou les aliments rencontrent de nombreux obstacles à leur implantation intestinale :
(1) la barrière gastrique très acide (pH 2-4) qui détruit 99 % des bactéries ingérés en 30 min (10^6 /mL E coli après ingestion dans le liquide gastrique passe en 1 h à 10^4 /mL 1 h) ; la gastrectomie, l'achlorhydrie gastrique (malnutrition…) , les antiacides rendent plus sensibles aux infections intestinales ;
(2) le mucus et les sécrétions intestinales : l'épaisse couche de mucus (> 400 µm) constitués de molécules-leurre telles que la fibronectine,

l'albumine, les IgA..., permet l'élimination permanente des bactéries ; divers produits de sécrétion ont des effets bactéricides, tels que la bile et les sels biliaires, les enzymes pancréatiques, et la lactoferrine qui diminue considérablement la concentration de ce métal indispensable à la réplication bactérienne rareté du fer.
(3) La motilité intestinale accélère l'élimination des bactéries et joue un rôle dans les processus d'absorption intestinale.
(4) la flore commensale est estimée à des titres de 10^8 entérobactéries et 10^{11} bactéries anaérobies / g. cette flore entre en compétition pour la quête des nutriments et l'interaction avec les sites cellulaires d'adhésion, et entretient des conditions hostiles de pH et d' oxydoréduction. Cette flore varie avec l'âge (nourrisson, vieillard) , le régime alimentaire et la malnutrition , la toxicomanie.
(5) Le GALT (*Gut associated lymphoid tissue*) est le système immunitaire du tube digestif directement en contact avec la flore intestinale. Il joue un rôle important contre les infections digestives. Il est constitué d'amas lymphoïdes (tels que amygdales et les plaques de Peyer (formés de lymphocytes B/T couverts d'entérocytes et de cellules M) , de lymphocytes intraépithéliaux disséminés (80 % lymphocytes T8).dans les villosités (2-3 x 10^5 /cm^2 , soit 1 lymphocyte pour 6 entérocytes), les lymphocytes du chorion (dans la *lamina propria*) qui sont des lymphocytes CD4 et CD8 (rapport T4 / T8 = 2) et de lymphocytes B (80 %, de plasmocytes productrices d' IgA). On trouve aussi dans le chorion des macrophages et des polynucléaires neutrophiles, lymphocytes.

Les étapes de l'infection entraînant des diarrhées bactériennes

Colonisation et production de toxines
La colonisation de la muqueuse se fait par des adhésines bactériennes très diverses selon les bactéries (*pili*, *fimbriae*…).

E coli* EPEC *V cholerae



La diarrhée est due à plusieurs facteurs :
1. Les bactéries produisent *in situ* des toxines qui interagissent avec des récepteurs membranaires (gangliosides GM1..), et déclenchent des cascades d' activation des entérocytes (activation de l'adénylcyclase) entraînant une fuite hydrique des entérocytes.
2. Les bactéries induisent une réaction inflammatoire intense à l'origine de la diarrhée: hyperproduction de prostaglandines (activation de adénylcyclase).
3. Les bactéries entraînent unedisparition des bordures en brosse, la diarrhée faisant suite à une malabsorption des nutriments.

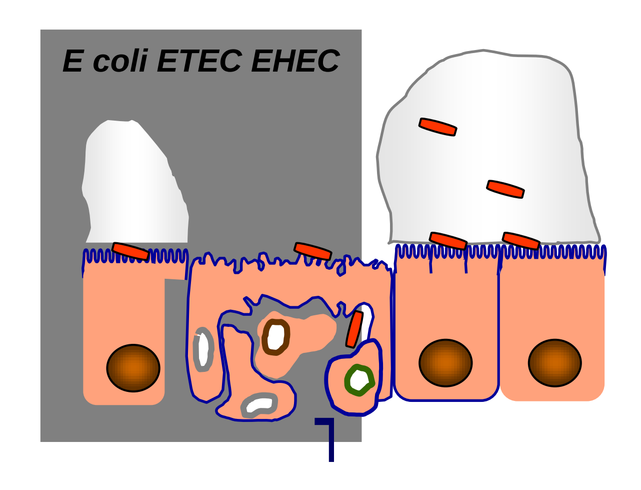
Les bactéries responsables des diarrhées bactériennes

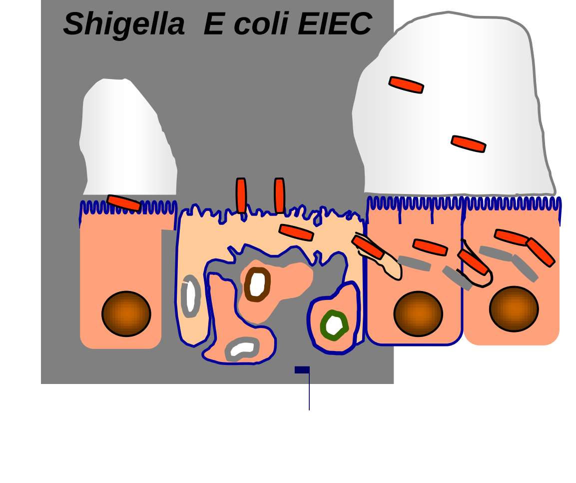
1. Les bactéries toxinogènes sans réplication, ni colonisation intestinale : *Staphylococcus aureus , Bacillus cereus, Clostriditim perfringens*, *Clostridittm botulinum*
La symptomatologie est due à des entérotoxines qui sont des neurotoxines agissant sur le système nerveux végétatif

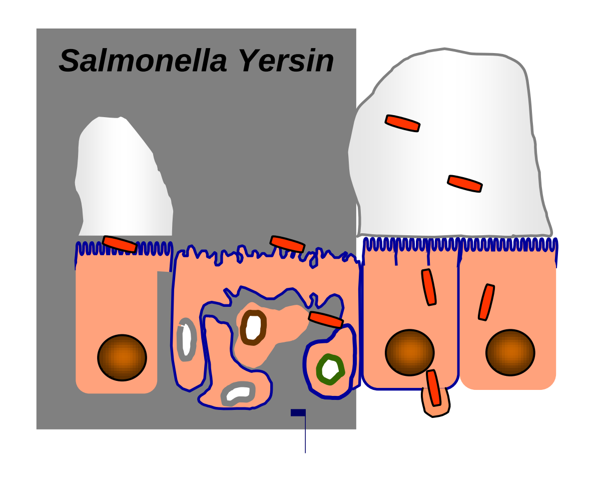
entrainant le hyperstaltisme et la diarrhée :

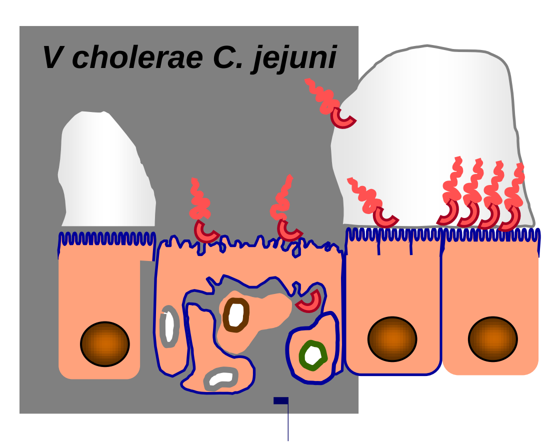
2. Les bactéries toxinogènes non invasives avec implantation et réplication intraluminale au contact des entérocytes :
E. coli non invasif (ETEC, EPEC, EHEC), *V. cholerae, V. parahaemolyticus , Aeromonas spp, Campylobacter jejuni*

3. Les bactéries entéroinvasives :
Shigella, *E. coli* EIEC , *Salmonella spp , Yersinia enterocolitica, Yersinia pseudotuberculosis*









Résumé

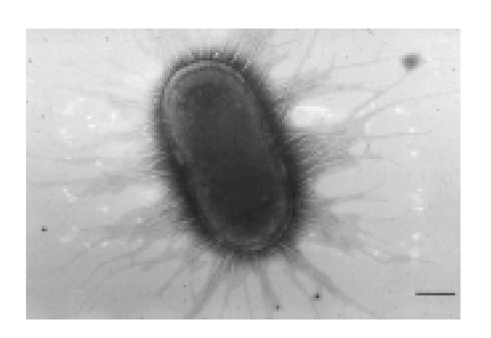
Pathovars	Germes	Incubation	Fièvre	Vomissements	Diarrhée
toxinogènes non implantés	*S. aureus* *B. cereus*	1 - 6 h	0	+++	+++
	C. perfringens	6 - 16 h	0	+++	+++
	C. botulinum	12 - 36 h	0	botulisme	0
Entéro-pathogènes non invasifs	ETEC EPEC EHEC *V cholerae* *C jejuni*	16 - 36 h	0	occasionnels	++
Entéroinvasifs	Shigella EIEC *Salmonella* *Yersinia*	12 - 72 h	0	+++	+++

Escherichia coli

C'est une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. Dans la flore digestive, il existe souvent au moins une dizaine de souches différentes de *Escherichia coli*. La plupart sont commensales, mais certaines souches possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent de déclencher des diarrhées.

Les diarrhées à *E. coli*

E. coli est une cause majeure de diarrhée aiguë dans le monde. La diarrhée peut revêtir deux aspects principaux : (1) un syndrome cholérique : diarrhée profuse, aqueuse, sans fièvre avec souvent vomissement (gastro-entérite durant quelques jours). Chez l'adulte, c'est la classique "*turista*". ; (2) un syndrome dysentérique : fièvre, douleurs abdominales violentes, crampes, ténesme, diarrhée glaireuse muco-sanglante, parfois hémorragique. L'évolution est en règle générale favorable après réhydratation et, éventuellement, traitement antibiotique ; (3) une complication particulière: la colite entéro-hémorragique avec selles hémorragiques après 48 heures dues à une colite ischémique aiguë. C'est une complication grave chez l'enfant. On rencontre parfois, au décours de l'épisode diarrhéique, apparition d'un syndrome hémolytique urémique (insuffisance rénale aiguë, thrombopénie, anémie hémolytique). L'évolution est habituellement favorable.



Pili de *E coli*

Physiopathologie des diarrhées à *E . coli*

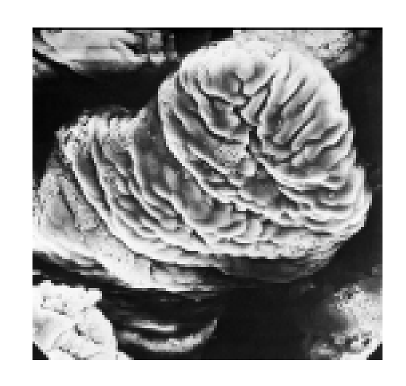
Les entérites à *E. coli* sont dues à différents pathovars :

***E. coli* entéropathogènes (EPEC)**

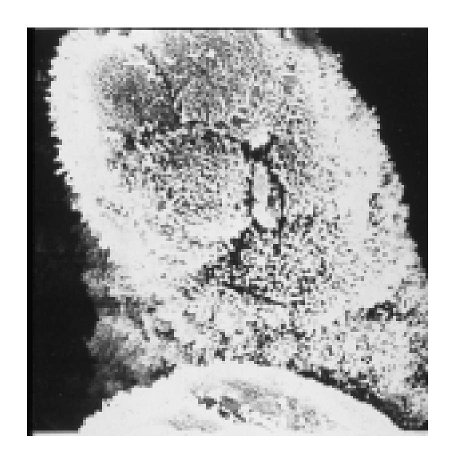
Les EPEC tapissent la muqueuse du duodéno-jéjunum sans l'envahir. Les bactéries adhèrent étroitement aux entérocytes par des adhésines non fibrillaires, et entraînent un effacement de la bordure en brosse sans pénétration des bactéries dans les cellules. Des micro-colonies adhérentes sont au contact des entérocytes. La diarrhée pourrait être due, d'une part à l'effacement de la bordure en brosse qui entraîne des troubles d'absorption des électrolytes, et d'autre part à la production d'une toxine de type "Vérotoxine" apparentée à la vérotoxine de Shiga (SLT1).

***Les E. coli* entérotoxinogènes (ETEC)**

Les ETEC sont responsables de diarrhée aiguë chez les enfants de moins de 2 ans, et de "*turista*". Ils donnent des syndromes cholériformes comme les EPEC. Les ETEC adhèrent aux cellules de la muqueuse intestinale sans l'envahir par des pili (*colonization factor antigen* CFA). Ils déclenchent la diarrhée par la production de toxines de type LT apparentées à la toxine cholérique. La toxine LT active l'adénylcyclase cellulaire entraînant l'accumulation d'AMP cyclique intracellulaire et une fuite hydro-électrolytique, diminuant l'absorption du sodium et du chlore, et donc d'eau.



E coli effaçant les microvillosités des entérocytes des villosités intestinales



Villosités intestinales normales

***E. coli* entéroinvasifs (EIEC)**

Ces souches sont responsables de syndromes diarrhéiques avec diarrhée fébrile, muco-sanglante. Elles sont très proches des shigelles et le mécanisme de la virulence est quasiment identique à celui des shigelles, avec invasion par les cellules M des entérocytes, multiplication dans les entérocytes et atteinte de la *lamina propria*.

***E. coli* entérohémorragiques (EHEC)**

Certaines souches appartenant en particulier au sérogroupe 0157 H7 sont à l'origine de diarrhée hémorragique, sans pus, survenant après ingestion d'aliments souillés. Il s'agit de colites ischémiques aiguës pouvant se compliquer de syndrome hémolytique urémique. Ces souches semblent produire en très

grande quantité une Vérotoxine de type SLT-1 apparentée à la "*Shiga toxin*", qui serait responsable de lésions endothéliales sur les capillaires de la muqueuse intestinale et rénale.

Epidémiologie des diarrhées à *E . coli*

Les EPEC induisent des cas de diarrhées sporadiques dans les pays occidentaux et sont responsables de grandes épidémies dans les pays en voie de développement. Les EIEC et les ETEC sont surtout rencontrés dans le Tiers-Monde, et ne sont pratiquement jamais observés dans les pays occidentaux. Les souches de EHEC, incluant *E. coli* 0157:H7, représente actuellement dans les pays occidentaux une cause majeure de diarrhée hémorragique parfois associée à un syndrome hémolytique urémique. C'est la cause la plus fréquente d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant. Inconnue chez l'homme avant 1982, *E. coli* 0157:H7 est responsable de nombreuses épidémies liées à la consommation de certains aliments mal cuits au Canada, en Afrique, au Royaume-Uni, en Allemagne, et au Japon. C'est un commensal de la flore digestive des bovins (1 % de portage fécal) qui contamine certains aliments d'origine animale ou végétale. Cette bactérie peut croître à 4 °C, et est résistante à l'acidité gastrique (acido-tolérant) et à des températures de près 60°C. Les épidémies sont dues notamment à la consommation d'hamburgers mal cuits, avec souvent des diarrhées hémo-rragiques compliquées dans 10 à 20 % des cas par un syndrome hémolytique urémique. L'incidence en France reste faible (1/100000 habitants). Outre *E. coli* 0157:H7, d'autres sérogroupes de *E. coli* peuvent être sporadiquement rencontrés (O26:H11, O111:NM...).

Diagnostic des diarrhées à *E . coli*

E. coli est une entérobactérie : bacille Gram -, oxydase -, aéro-anaérobie, cultivant sur milieux ordinaires, fermentant le glucose avec production de gaz, possédant une nitrate réductase.

Prélèvements

Les souches de *E coli* sont recherchées dans les selles diarrhéiques par coproculture. La flore digestive normale contient de nombreuses souches non pathogènes de *E. coli.* Il faut donc distinguer les différents pathovars qui sont prédominants parmi ces souches commensales.

Isolement et identification

Les selles sont cultivées sur milieux des milieux sélectifs (contenant des antiseptiques) pour les entérobactéries type Salmonelle-Shigelle (SS) ou Drigalski. Après incubation à 37°C, les colonies de *E. soli* apparaissent en 24 h : colonies *smooth* S , de 2 à 3 mm de diamètre.

- Ces colonies présentent les caractères des entérobactéries : bacille Gram -, oxydase -, aéro-anaérobie, cultivant sur milieux ordinaires, fermentant le glucose avec production de gaz, possédant une nitrate réductase.
- Les bactéries fermentent le glucose et lactose avec gaz et sont indole + .

Le diagnostic de pathovar repose sur l'étude des colonies de *E. coli* (5-6 colonies) à partir du milieu d'isolement.

- Les souches de EPEC possèdent certains sérotypes et capsulaires particuliers. Les plus fréquents sont les O26 K60, O55 K59, O86 K61… Les colonies sont sérotypées par agglutination directe des colonies à l'aide de sérums de référence (environ 10 sérums).

- Les souches de ETEC sont identifiées en mettant en évidence des pili CFA avec un sérum anti-CFA et de la production de toxines LT ou ST : la toxine LT, avec des sérums spécifiques anti-LT par test ELISA ; les toxines ST, par un test de toxicité sur souriceau nouveau-né après ingestion orale.
- Les souches de EIEC sont identifiés par leurs caractères biochimiques qui les font ressembler aux shigelles (fermentation du glucose sans gaz, et présence d'antigènes O communs avec les shigelles) et par la mise en évidence par aggutination de certains sérogroupe O (O157 H7 est le plus fréquent). Ces souches induisent une kérato-conjonctivite dans l'œil de cobaye (test de Sérény) et envahissent les cellules HeLa in vitro.

Traitement des diarrhées à *E . coli*

Ces diarrhées à E coli sont traitées par réhydratation. Un traitement antibiotique peut être nécessaire pour les souches entéroinvasives. On utilise habituellement l'ampicilline ou le triméthoprime-sulfamétoxazole (Bactrim) en général pendant une semaine .

Les salmonelles

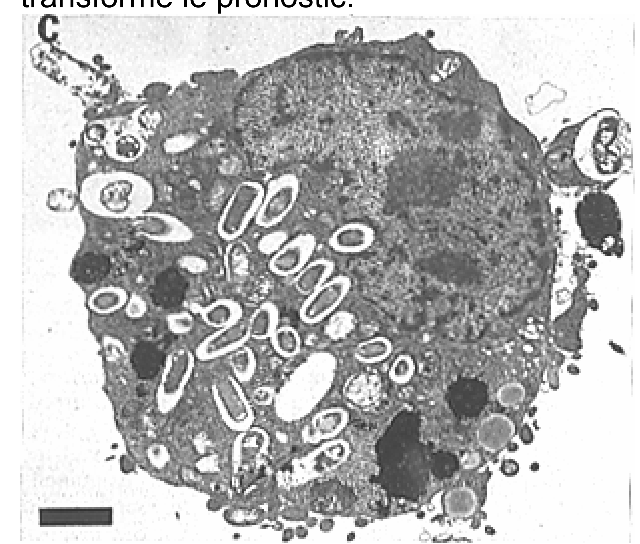
Les salmonelles sont des entérobactéries virulentes à tropisme digestif, pathogènes pour l'homme et pour de nombreux animaux vertébrés. Certains sérotypes sont très virulents et pathogènes pour une seule espèce animale ou pour l'homme.

Les salmonelloses.

Les salmonelles sont responsables de 2 types d'infection humaine :

Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont des infections septicémiques strictement humaines, dues à un nombre limité de sérotypes de salmonelles : *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, B et C. Après ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, le début clinique survenant après une incubation de 8 à 15 jours, est progressif, marqué pendant les 7 premiers jours (1^{er}septénaire) par une fièvre qui s'élève progressivement, des céphalées, épistaxis, vomissements et constipation. L'examen clinique montre l'existence d'un pouls lent et d'une splénomégalie avec leucopénie. C'est une fièvre leucopéniante. A la phase d'état (2ème septénaire), le malade présente un syndrome fébrile à 39°-40°C, avec confusion mentale (*tuphos*), avec parfois des localisations cutanées métastatiques (tâches rosées) et des métastases, en particulier à l'endocarde ou au système nerveux central (méningo-encéphalite). La fièvre typhoïde n'entraîne pas de diarrhée. Des complications graves peuvent survenir : perforation digestive, hémorragie digestive. Dans un certain nombre de cas, sans traitement, la guérison pouvait survenir après 3 semaines. Le traitement antibiotique a transformé le pronostic.



Salmonella intracellulaires

Les toxi-infections alimentaires

Les salmonelles sont une des causes principales des toxi-infections alimentaires (*Salmonella enterica* séro-types Typhimurium*,* Enteritidis, Dublin, Wien ...). Il s'agit d'une maladie diarrhéi-que, survenant après une incubation courte de 12 à 24 heures suivant l'inges-tion d'eau ou d'aliments contaminés. C'est une gastro-entérite fébrile, 38-39°C, avec vomissements et diarrhée banale. La guérison survient habituel-lement rapidement. La gravité de cette infection est surtout liée à l'importance de la déshydratation qu'elle peut entraîner chez le nourrisson et le vieillard.

La physiopathologie et épidémiologie des salmonelloses.

Après ingestion d'une faible dose infectant (< 10^5 bactéries), les bactéries vont pendant l'incubation pénétrer l'épithélium intestinal en traversant les entérocytes par transcytose pour atteindre la *lamina propria* où elles induisent une réaction inflammatoire intense avec afflux de monocytes dans le cas de *S. typhi*, ou de polynucléaires dans le cas des salmonelloses de toxi-infections alimentaires. Les bactéries atteignent la *lamina propria* sans multiplication dans les entérocytes, et sont phagocytées par les polynucléaires neutrophiles qui les détruisent dans le cas des salmonelles des toxi-infections, ou se multiplient dans les monocytes dans le cas de *S. typhi*, pouvant ainsi disséminer dans le sang, après passage par voie lymphatique.

La fièvre typhoïde est donc une septi-cémie à point de départ intestinal, alors que les bactéries des toxi-infections alimentaires restent confinées à la *lamina propria* du tube digestif. Dans le cas des toxi-infections alimentaires, la diarrhée est due à la production de toxines LT (thermolabile), de cytotoxines et à la réaction inflammatoire intense à poly-nucléaires neutrophiles produisant loca-lement des prostaglandines. Ces toxines et les prostaglandines entraînent en effet une perte d'eau par les entérocytes et une malabsorption du sodium.

Epidémiologie des salmonelloses

Les sérotypes responsables de la fièvre typhoïde sont transmis par l'eau contaminée par les selles de patients ou de porteurs sains (*S enterica* sérotype Typhi, Paratyphi A, B, C…). La maladie est rare en France et dans les pays occidentaux du fait de l'assainissement des réseaux d'eau potable. Elle reste fréquente dans le Tiers-Monde avec une mortalité élevée (30 millions de cas déclarés et 580 000 morts/ an d'après l'OMS).

Les salmonelles non-typhiques contaminent fréquemment les animaux d'élevage et sont à l'origine de nombreuses épizooties. De nombreux sérotypes de *Salmonella enterica* sont à l'origine de toxi-infections alimentaires chez l'homme après ingestion d'aliments contaminés. Certains sérotypes ont récemment émergé du fait de leur remarquable capacité d'adaptation à des environnements hostiles au cours du processing des aliments. *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis est un pathogène émergent à partir de 1985 aux États-Unis et en Angleterre. La conta-mination humaine se fait par l'inte-rmédiaire des œufs de volaille conta-minés sur leur coquille ou à l'intérieur même des œufs au cours de leur formation dans l'oviduct. De très nombreuses épidémies dues à cette bactérie ont été observés dans la plupart des pays développés. De même, des souches de *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium appartenant à un clone DT104 ont émergé à partir de 1990 au Royaume-Uni et sont devenues actuel-lement une cause majeure de salmo-nelloses humaines. Près de 90 % des souches sont résistantes à l'ampicilline,

au chloramphénicol, à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline, et un taux estimé à 30 % des souches expriment aussi une résistance à la ciprofloxacine et au triméthoprime. L'émergence de ces souches multi-résistantes est la résultante directe de l'utilisation massive d'antibiotiques chez les animaux.

Diagnostic des salmonelloses.

Prélèvements

Le diagnostic bactériologique d'une infection à salmonelle est assez facile, reposant sur l'isolement du germe à partir des selles et , pour les fièvres typhoïdes, à partir des hémocultures et par sérodiagnostic. Pour les hémocultures, plusieurs prélèvements de sang sont réalisés chez les malades soupçonnés de fièvre typhoïde (3 à 5 hémocultures en quelques heures), de préférence au moment de variation brutale de température (ascension ou chute). Le sang est prélevé sur un bouillon ordinaire ou enrichi, en respectant la proportion de 10 % de sang en concentration finale. Les hémocultures sont généralement positives en 1 à 3 jours à 37°C.
Les coprocultures sont réalisés à partir des selles non diarrhéiques pour la fièvre typhoïde ou diarrhéiques dans les salmonelloses non-typhiques.

L'examen microscopique des selles

A la phase aiguë de la salmonellose, les salmonelles sont très abondantes dans les 10^7 à 10^9/ mL. L'examen microscopique de la selle montre une nette prédominance de bacilles à Gram négatif de 2 à 3 μ de long et 0,6 μ de large, mobiles, avec une réaction inflammatoire à polynucléaires avec présence d'hématies.

Isolement et identification

Les salmonelles sont faciles à isoler sur un milieu sélectif type Salmonelle-Shigelle (SS), milieux additionnés de lactose avec des sels de fer et des antiseptiques. Ces milieux, qui inhibent la flore à Gram positif, permettent d'isoler les salmonelles sous forme de colonies H_2S+ , lactose -. Les milieux liquides d'enrichissement (type Muëller-Kauffmann) sont utilisés systématiquement. Ce sont des milieux à la bile et au vert brillant qui permettent la croissance sélective en milieu liquide des salmonelles. Ces milieux sont ensuite repiqués sur milieu sélectif d'isolement de type SS.



Colonies noires de *Salmonella* (production H_2S) et de *E coli* sur milieu sélectif de Drigalski.

Les colonies de salmonelles sont lisses, de type *smooth* S, à bord régulier, de 2 à 3 mm, en 24 heures à 37°C. Sur milieu SS, les colonies apparaissent lactose -, H2S +, urée -, indole -. Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif appartenant au groupe des entérobactéries : oxydase -, aéro-anaérobie-, poussant facilement sur milieux ordinaires, fermentant le glucose, et possédant une nitrate réductase. Il n'existe qu'une seule espèce de salmonelle : *Salmonella enterica*.

Identification antigénique

Les souches de salmonelle sont systématiquement sérotypées. Les anti-gènes O (lipopolysaccharide ou LPS) correspondent à un certain nombre de déterminants antigéniques O1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Ils permettent de classer les salmonelles en différents groupes en fonction de déterminants antigéniques de la chaîne latérale du LPS. Les antigènes d'enveloppe Vi sont une mince couche de glycolipides qui recouvrent le LPS chez certaines espèces de salmonelles (*S. typhi*). Les antigènes H sont des protéines flagellaires correspondant aux cils des salmonelles. La flagelline existe sous 2 formes antigéniques appelées phase 1 et 2 et avec des sérums de référence. Il est donc possible de sérotyper les souches isolées et d'identifier le sérotype O et H des salmonelles selon la classification de Kauffmann et White. *Salmonella enterica* comprend plus 2200 sérotypes (ou sérovar) , dont seulement 4 sérotypes responsables de la typhoïde (*S. enterica* sérovar Typhi, *S. enterica* sérovar Paratyphi A, B et C), et une dizaine de sérotypes prédominants responsables en France de gastro-entérites (*S. enterica* serovar Typhimurium ou *enteritidis*...).

Sensibilité aux antibiotiques

Les souches de salmonelles non-typhiques peuvent être multirésistantes aux antibiotiques (*Salmonella enterica* sérotype Typhimurium DT104…). Les souches de *S enterica* sérovar Typhi et apparentés sont en général sensibles aux antibiotiques.

Sérodiagnostic des salmonelles

Le sérodiagnostic de Widal et Félix est surtout utile au diagnostic des fièvres typhoïdes. Il permet la recherche d'anticorps anti-O et anti-H des sérovars Typhi , Paratyphi A B C. La cinétique de ces anticorps est typique : apparition précoce des anticorps anti-O (titre : 1 /200-400) et anti-H au 10-12ème jour (1 /800-1600), un pic à 1-2 mois, puis des taux résiduels pendant plusieurs mois ou années.

Traitement

Le traitement des fièvres typhoïdes est avant tout basé sur une antibiothérapie à doses progressives (amoxicilline, trimé-thoprime-sulfaméthoxazole, chloramphé-nicol…). Le traitement des salmonelloses non-typhiques est basé sur la réhydratation et une antibiothérapie adapté (le plus souvent amoxicilline, ou triméthoprime-sulfaméthoxazole…) . Le traitement préventif est basé sur l'utilisation d'un vaccin anti-*Salmonella typhi* en utilisant l'antigène Vi (Typhim). Utilisé par voie sous-cutanée, il donne une bonne protection contre la fièvre typhoïde.

Les Shigelles

Les shigelles sont des entérobactéries à tropisme exclusivement digestif, très proches de *Escherichia coli* . Ces bactéries envahissent la muqueuse colique, déclenchant des entérites inflammatoires fébriles dans le monde entier. Les shigelles sont des bactéries strictement humaine. Il existe 4 espèces : *Shigella dysenreriae*, responsable de la dysenterie bacillaire, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*. Dans les pays développés, on ne rencontre que *S. sonnei* et *S. flexneri*. La gravité de cette infection est liée à la déshydratation qu'elle provoque, nécessitant une anti-biothérapie et une réhydratation d'urgen-ce.

Les diarrhées à shigelles

La dysenterie bacillaire
La dysenterie bacillaire est due à *Shigella dysenreriae* . Après une incuba-tion courte (quelques heures à 3 jours), le

début est brutal avec fièvre, douleurs abdominales, diarrhée après 2 jours. le syndrome dysentérique associe crampes, ténesme, et diarrhée muco-sanglante afécale, fièvre à 39°-40°C, déshydratation. A la sigmoïdoscopie, la muqueuse est œdémateuse, avec une inflammation intense et des ulcérations par décollement de l'épithélium colique.

Les entérites infectieuses

Les infections à S. sonnei, S. flexneri, S. boydii donnent un tableau de gastro-entérite proche des toxi-infections alimentaires à salmonelles. Cette maladie beaucoup moins sévère avec souvent une simple diarrhée aqueuse fébrile est de bon pronostic.

Physiopathologie des shigelloses

Les shigelles sont des bactéries résistantes à l'acidité gastrique (4 heures dans l'estomac). La dose infectante est très faible, inférieure à 10^3 bactéries . Les bactéries colonisent l'iléon terminal et le côlon. La shigellose est une maladie localisée au côlon. Les bactéries traversent les cellules M pour envahir les entérocytes où elles se multiplient. Après lyse cellulaire, elles atteignent la *lamina propria* où elles déclenchent une réaction inflammatoire intense à polynucléaires. Les polynucléaires vont habituellement détruire les bactéries dans la *lamina propria* et on n'observe habituellement pas de dissémination sanguine. Des polynucléaires peuvent traverser l'épithélium et se retrouver ainsi massivement dans la lumière intestinale, donnant des selles afécales avec présence de nombreux polynucléaires. Les facteurs de virulence des shigelles sont portés par un plasmide qui code pour des gènes responsables de l'invasivité des bactéries et de la croissance intracellulaire. Des gènes codant pour des protéines d'enveloppe externe permettent aux bactéries de pénétrer dans les entérocytes par la face baso-latérale des entérocytes. Les bactéries échappent de la vacuole de phagocytose et se multiplient dans le cytoplasme. Elles peuvent produire une toxine proche de la toxine cholérique (vérotoxine).

Epidémiologie des à shigelloses

Les shigelles sont des bactéries strictement humaine transmise à partir des selles des patients et des objets ou aliments contaminés (péril fécal). Les sérotypes *S dysenteriae* et *S flexneri* sont rencontrés exclusivement dans le Tiers-Monde, alors que *S boydii* et *S sonnei* peuvent se rencontrer dans les pays occidentaux. Environ 250 millions de cas de shigelloses sont déclarés annuellement avec 775000 morts, d'après l'OMS

Diagnostic des diarrhées à shigelles

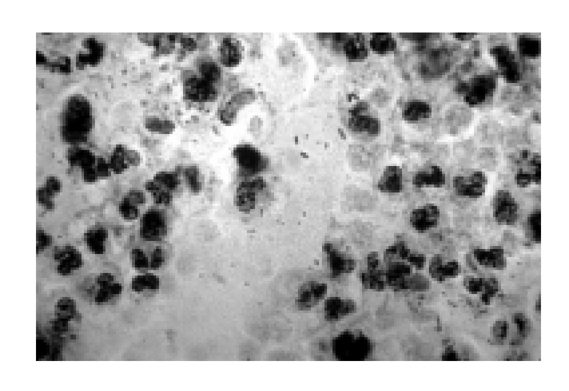
Les shigelles sont des entérobactéries à tropisme exclusivement digestif. Les bactéries doivent donc être retrouvées exclusivement dans les selles.

Prélèvements

On recherche les shigelles par coprocultures dans les selles diarrhéiques afécales muco-sanglantes. Les bactéries peuvent parfois être isolées par hémoculture (<10%) chez des patients malnutris en zone d'endémie.

L'examen microscopique des selles

L'examen microscopique des selles révèle la présence de bacilles Gram négatif immobiles (à l'état frais) associés à de nombreux polynucléaires et à des hématies.



Polynucléaires dans les selles de diarrhée à *Shigella*

Isolement et identification

Les selles sont mises en culture sur milieux sélectifs (milieux de Drigalski et SS...). Les colonies apparaissent en 24 heures, de 2 à 3 mm de type S (*smooth*), à bords réguliers. Les shigelles sont des entérobactéries : bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies, cultivant sur milieu ordinaire, fermentant le glucose sanguin, oxydase -, nitrate réductase +. Les shigelles sont immobiles, agazogènes, fermentent le glucose, pas le lactose et sont uréase -. H2S -.

Identification antigénique

On distingue les 4 espèces : *S. dysenteriae, S. flexneri, S. boydii, S. sonnei* par leurs caractères antigéniques:
(1) *S. dysenteriae* appartient au séro-groupe A comprenant 10 sérotypes.
(2) *S. flexneri* appartient au sérogroupe B comprenant 6 sérotypes.
(3) *S. boydii* appartient au sérogroupe C comprenant 15 sérotypes.
(4) *S. sonnei* appartient au sérogroupe D comprenant 1 seul sérotype.

Le sérodiagnostic (recherche d'anticorps spécifiques) n'a qu'un intérêt épidémio-logique.

Sensibilité aux antibiotiques

Les shigelles sont sensibles à tous les antibiotiques, mais on peut rencontrer des porteuses de plasmides codant pour 4 ou 5 résistances.

Traitement des shigelloses

Les shigelloses sont traitées par réhydratation et antibiothérapie (ampicilline,cotrimoxazole…).La prophylaxie des shigelloses est la prévention du péril oro-fécal (hygiène de l'eau et des mains).

Campylobacter jejuni

Les campylobactérioses sont des zoonoses mondialement répandues chez nombreux animaux domestiques et sauvages. Ce sont des bactéries à Gram négatif, incurvées, microaérophiles, nécessitant des conditions de culture particulières. L'espèce principale est *Campylobacter jejuni.*

Campylobactérioses

La plupart des infections humaines sont dues à l'espèce *C. jejuni* qui est une des causes majeures de diarrhée dans le monde entier, en particulier chez le jeune enfant. Après une incubation de 1 à 4 jours après l'absorption d'aliments ou d'eau contaminés, la maladie associe un malaise, des douleurs abdominales, une fièvre peu importante et une diarrhée aqueuse, parfois associée avec la présence de pus dans les selles. La diarrhée dure quelques jours et régresse spontanément en l'absence de traitement. Le pronostic ne dépend que de la réhydratation du patient. Les infections à *Campylobacter* (1,5 / 1000 infections) s'accompagnent d'une dissémination sanguine avec diarrhée chronique chez les personnes fragiles aux défenses affaiblies (femmes enceintes, nourrissons, vieillards, Immu-

nodéprimés...). Rarement, un syndrome de Guillain-Barré peut survenir 2 à 3 semaines après la diarrhée avec des paralysies transitoires des membres surtout chez l'enfant, de bon pronostic.

Physiopathologie des Campylobactérioses

On sait peu de chose des mécanismes de la diarrhée à *Campylobacter*. La dose infectante ingérée avec les aliments contaminés est faible (environ 1000 bactéries). *C. jejuni* est un pathogène extracellulaire adhérant aux micro-villosités et produit des entérotoxines déclenchant la diarrhée. Certaines souches pourraient être invasives.

Epidémiologie des Campylobactérioses

Les campylobactérioses sont des zoonoses répandues dans le monde entier, atteignant de nombreux animaux domestiques (bétail, chats, chiens…) et chez l'homme de toxi-infections alimentaires habituellement bénignes. À partir du début des années 1980, *C. jejuni* a été reconnu comme une cause majeure d'infection digestive. Ce germe serait responsable de 4 millions de cas annuels aux États-Unis, avec certaines complications post-infectieuses comme le syndrome de Guillain-Barré. En France, ce pathogène est la première causes de diarrhées aiguës d'origine alimentaire. La plupart des cas humains sont liés à l'absorption d'aliments contaminés et insuffisamment cuits. De rares cas sont liées à un contact direct avec des animaux de compagnie (chiens ou chats) ou du bétail. Le taux de portage dans les selles de la population est inférieur à 1 % dans les pays industrialisés. L'origine des contami-nations alimentaires est les excréta des animaux porteurs de souches de *Campylobacter*. Beaucoup d'animaux d'élevage sont contaminés de façon asymptomatique. Par exemple, les poulets porteurs éliminent dans leurs selles des taux très élevés de l'ordre de 10^9 bactéries / g de selle sans aucun symptôme. Les bactéries répandues dans l'environnement, notamment au cours de l'abattage, vont fréquemment infecter les carcasses.

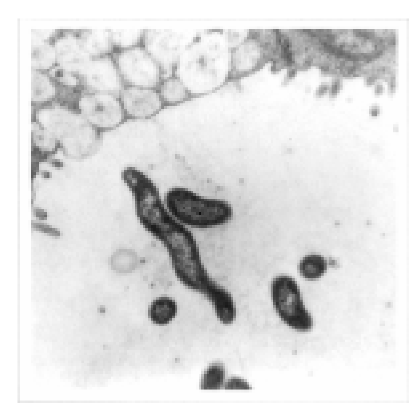
Diagnostic bactériologique des diarrhées à Campylobacter

Prélèvements

Les *Campylobacter* sont retrouvés quasi exclusivement dans les selles des patients (coproculture).

L'examen microscopique des selles

L'examen microscopique des selles fraîches permet de suspecter le diagnostic par la présence de bactéries très mobiles et incurvées. Les bactéries sont des bacilles à Gram négatif en virgule ou en hélice, parfois associées à la présence de pus, de polynucléaires et de sang dans les selles.



C jejuni au microscope électronique

Isolement et identification

Les *Campylobacter* sont des bactéries difficiles à cultiver car microaérophiles, capables de croître uniquement en

atmosphère d’azote , d’ oxygène à 5 % et de C02 de 10 %. L’isolement en culture nécessite l’utilisation de milieux de culture sélectifs additionnés d’antibio-tiques (vancomycine, polymyxine et tri-méthoprime), incubés à 42°C , tempé-rature permissive pour *Campylobacter* et inhibant les entérobactéries.

Antibiogramme

Les souches de *Campylobacter* restent sensibles à la plupart des antibiotiques et le traitement de choix est l'érythromycine avec, comme alternative chez l'adulte les nouvelles quinolones (ciprofloxacine). Des taux de résistance de l'ordre de 5 % sont rapportés pour l'érythromycine et le taux de résistance pour les fluoroqui-nolones augmente.

Traitement

Le traitement associe des antibiotiques tels que l'érythromycine ou la tétracycline, et la réhydratation orale.

Vibrio cholerae

Le choléra est une maladie infectieuse strictement humaine due à un bacille Gram négatif en virgule, *Vibrio cholerae* ou vibrion cholérique. *V cholerae* a un tropisme exclusivement digestif. C’est une bactérie très contagieuse respon-sable d’épidémies dans le monde entier (pandémies).

Le choléra

Le choléra est une maladie strictement humaine entraînant une diarrhée avec une déshydratation aiguë. Dans sa forme grave typique (choléra sévère), après une courte incubation (quelques heures à 5 jours), la maladie débute par une diarrhée fécaloïde, puis aqueuse sans fièvre, associée à des douleurs violentes épigastriques et abdominales et des vomissements en fusée. A la phase d'état , la diarrhée aqueuse devient incoercible, avec des grains riziformes et débris de muqueuse. Ceci entraîne une déshydratation aiguë, avec voix rauque, yeux exorbités, cyanose, asthénie profonde, crampes, amaigrissement extrême, et hypothermie (température à 35-36°C). En l’absence de traitement, cette déshydratation est souvent à l’origine d’un collapsus cardio-vasculaire avec acidose et insuffisance rénale. Cependant, on sait que l’infection par *V cholerae* est la plupart du temps totalement asymptomatique (près de 90% des cas), avec élimination des bactéries dans les selles pendant plusieurs jours. Le spectre de la maladie va de la diarrhée banale (environ 10% des sujets infectés) et au choléra sévère (environ 1% des infectés). La mortalité sans réhydratation atteignait autrefois parfois 50 %. La réhydratation correcte-ment menée fait tomber le taux de mortalité à moins de 1%.

La physiopathologie du choléra

Les vibrions sont absorbés par voie orale avec l’eau de boisson ou les aliments, ou même après contact direct avec des patients ou des porteurs sains. L’acidité gastrique protège partiellement en réduisant considérablement le nombre de bactéries accédant au duodéno-jéjunum. Les bactéries se multiplient alors dans la lumière de l'intestin grêle et traversent la couche de mucus tapissant la muqueuse intestinale grâce à leur mobilité conférée par un flagelle unique et à une mucinase.

Les bactéries adhèrent intimement à la bordure en brosse des entérocytes par des pili de type IV. Le syndrome dia-rrhéique est dû à la sécrétion *in situ* d'une exotoxine protéique qui entraîne une fuite d'eau et d'électrolytes. Cette toxine est une protéine thermolabile composée d’ une sous-unité H (ou A) de 28 kDa et de

5 sous-unités L (ou B) de 8 kDa. L'exotoxine se fixe par ses sous-unités L au ganglioside G_{M1}, récepteur glycolipidique de la membrane des entérocytes. La sous-unité H est une pro-enzyme avec activité ADP-ribosylase révélée par protéolyse. Cette ADP-ribosylase libérée dans le cytoplasme active l'adénylcyclase des entérocytes en bloquant la sous-unité α de la protéine Gs qui normalement inhibe cette enzy-me. Ceci induit une augmentation de l'AMPc intracellulaire, et provoque l'excrétion anormale d'ions sodium et la fuite hydrique.
Les gènes codant pour la toxine cholérique et pour les pili sont codés par des phages filamenteux, CTX Ø et VPI Ø formant des îlots de pathogénicité. Le LPS jouerait aussi un rôle dans la colonisation de l'épithélium intestinal et dans la pathogénie de la maladie .Le LPS est un antigène protecteur majeur induisant l'apparition d'anticorps vibrio-cides protecteurs.

Immunité contre le choléra

L'immunité contre *V. cholerae* est humorale et de courte durée (2 à 3 ans). En zone d'endémie, les enfants paient un lourd tribu à la maladie, alors que les adultes sont relativement épargnés du fait de contaminations itératives qui leur confèrent une immunité parfois abrogée par la malnutrition.

Epidémiologie du choléra.

Les sept pandémie de choléra

Depuis le début du 19ème siècle, où les moyens de communication par voie maritime se sont considérablement accélérés, sept pandémies se sont succédées jusqu'à nos jours. A partir de 1817, les six premières pandémies sont parties de foyers endémiques permanents d'Asie (delta du Gange, Bangladesh, Asie du Sud-Est). Depuis la découverte du vibrion cholérique à la fin du 19ème siècle, les souches de *V. cholerae* à l'origine des pandémies appartenaient au sérovar O1 biovar Cholerae (dit classique). En 1961, a émergé une nouvelle souche O1 présentant des caractères biochimiques particuliers définissant un nouveau biovar dit Eltor. C'est cette souche qui fut à l'origine de la 7ème pandémie partie des îles Célèbes en Indonésie et qui se propagea dans l'ensemble du Tiers-Monde où elle sévit encore aujourd'hui .
La pandémie a atteint en 1961 l'Afrique où le choléra n'était pas connu, puis l'Amérique latine en 1991 où cette maladie avait disparu depuis 1897. A partir du Pérou, la maladie a frappé la plupart des pays latino-américains en quelques mois faisant plusieurs centaines de milliers de victimes. Comme dans beaucoup d'autres pays en voie de développement d'Asie et d'Afrique, le choléra s'est installé à l'état endémique en Amérique latine, où il sévit actuellement de façon saisonnière.
En 1992 , une nouvelle souche épidé-mique inconnue jusque-là est apparue en Inde et au Bangladesh. Cette souche très contagieuse s'apparentait au biovar Eltor et portait un LPS inconnu dit O139. Depuis la souche persiste à l'état endémique dans ces 2 pays et déclenche des bouffées épidémiques pour le moment limitées à cette région du monde. Son extension pourrait signifier le début d'une huitième pandémie.

Habitat

V. cholerae est une bactérie saprophyte retrouvée dans l'environnement , parti-culièrement dans les eaux saumâtres des estuaires, les lits des fleuves et au contact du zooplancton (copépodes), des algues marines et des plantes aquatiques. La bactérie peut contaminer les fruits de mer et l' intestin des poissons. Elle survit pendant 50 jours dans l'eau de mer à 5-10°C, 10-12 jours à

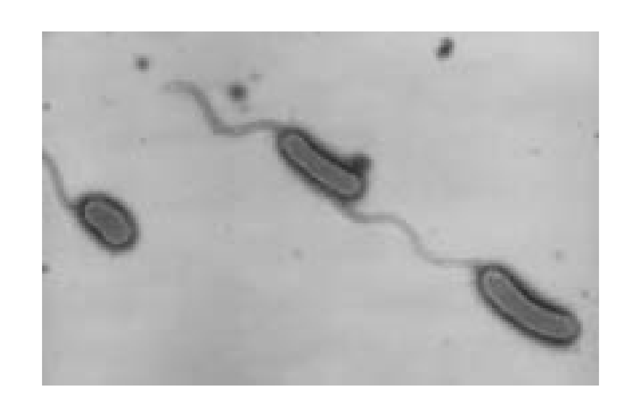
30-32°C, expliquant son existence saprophyte et sa persistance limitée aux zones intertropicales. Au cours du choléra, *V. cholerae* est éliminé en général pendant 5-10 jours, souvent en très fortes quantités (10^9 bactéries / mL) dans les selles aqueuses très abondantes des patients (parfois 10-20 L / jour). Les porteurs sains sont très nombreux au cours des épidémies et sont un important vecteur de propa-gation du choléra. Ils sont en effet contagieux, bien qu' éliminant des quan-tités beaucoup plus faibles de bactéries pendant 1-7 jours (rarement jusqu'à 40 jours).

Transmission

V. cholerae est transmis par voie orale par les aliments et l'eau de boisson contaminés. La dose infectante est élevée chez les personnes sans facteur de risque, notamment du fait du filtre très acide de l'estomac. Des doses de 10^8 et de 10^{11}bactéries entraîne respecti-vement une diarrhée banale chez 50 % et un choléra grave chez 100% des sujets. En présence de bicarbonate de soude ou avec des aliments, des doses de 10^3-10^4 induit une diarrhée banale et une dose de 10^8 bactéries une diarrhée cholériforme. En zone d'endémie, le risque vient de l'eau stagnante conte-nant des matières organiques et massivement polluée (égouts, fèces) et de la contamination des mains qui est à l'origine avec l'eau de la contamination de la nourriture. Certains aliments (en particulier alcalins) sont fréquemment contaminés par *V. cholerae*. (légumes frais, riz, millet, fruits de mer…). Le choléra est une maladie des mains sales. La cuisson de l'eau et des aliments est une protection simple et efficace de la propagation de la maladie.

Diagnostic bactériologique du choléra

V. cholerae est un bacille à Gram négatif dont le génome comprend 3855 gènes répartis sur 2 chromosomes de 2965 kb et de 1073 kb (qui serait un méga-plasmide). Ce bacille à Gram négatif à l' aspect particulier en virgule (*comma*) est très mobile avec un cil polaire (monotriche).



V cholerae au microscope électronique

Prélèvements

Chez les patients cholériques, *V cholerae* est mis en évidence presqu' exclu-sivement dans les selles aqueuses (coproculture) , parfois sur la peau, mais jamais dans le sang ou les urines ou tout autre prélèvement.

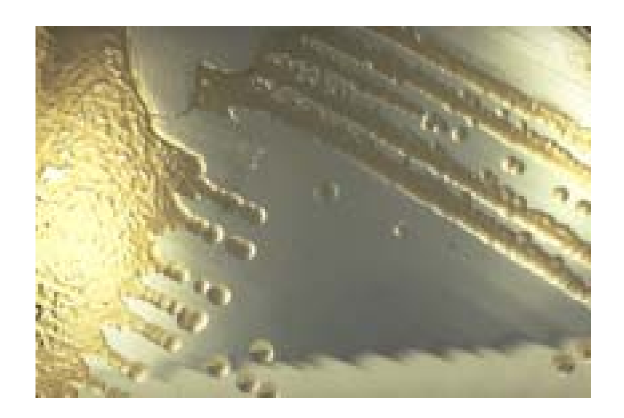
Examen microscopique des selles

Au cours du choléra, les vibrions sont visibles dans les selles aqueuses des patients comme des bactéries en virgule, très nombreuses et très mobiles à l'état frais, à Gram négatif. .

Isolement et identification

Chez les patients cholériques, *V. cholerae* est facilement isolé en culture presque pure sur géloses ordinaires ou alcalines (pH 9,6) ou sur certains milieux sélectif type TCBS incubés à 37°C. Les colonies apparaissent très rapidement en 8h à 10h, de 2-3 mm , transparentes. Chez les sujets porteurs sains ou avec simple diarrhée, il convient d'utiliser des

milieux d'enrichissement type eau peptonée alcaline hypersalée repiqués régulièrement sur gélose, ce qui permet d'isoler les germes en faible quantité dans les selles.



Colonies transparentes de *V cholerae*

V. cholerae est une bactérie oxydase positive, aéro-anaérobie, capable de respirer et de fermenter les sucres sans production de gaz (glucose, D-saccharose, D-mannose, D-mannitol , lactose). Les bactéries croissent à la température optimale de 30-37°C, tolérent 1-3% de NaCl (halotolérance) , à un pH de 7 et 10 (la multiplication est inhibée à pH acide ≤ 6).
V. cholerae sécrète de nombreuses enzymes (lécithinase, lipase, amylase) et produit certains enzymes métaboliques (l'ornithine décarboxylase : ODC+), mais ne produit pas de lysine décarboxylase (LDC), d'adénosine dihydrolase (ADH), d'uréase ni de H_2S. certains biovars (Eltor) produisent une hémolysine mis en évidence avec du sang de mouton lavé (5%).

Biovars de *V. cholerae.*

On distingue 2 biovars principaux de *V. cholerae* d'après les caractères métaboliques : hémolyse, hémaglutination, fermentation acétoïne du glucose, sensibilté à la polymyxine et au phage IV .

Sérovars de *V cholerae*.

Les souches épidémiques de *V. cholerae* appartiennent uniquement aux sérovars O1 et O139. Les souches dites non-O1-non-O139 proviennent de l'environnement et sont rarement à l'origine de cas sporadiques de diarrhée banale sans potentiel épidémique dans le monde entier.

Traitement

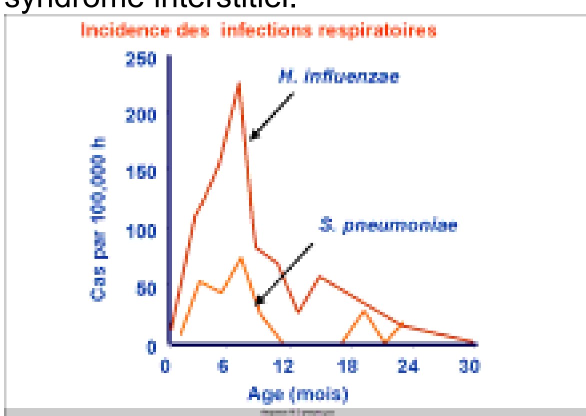
Le traitement du choléra est basé sur la réhydratation des patients (intra-veineux ou sels de réhydratation oraux).
L'antibiothérapie est associée. Il existe des vaccins inactivés ou vivant qui confèrent un protection loin d'être complète

Les bactéries des infections respiratoires communautaires

Les bactéries des infections respiratoires communautaires

Les infections respiratoires ORL et pulmonaires sont responsables d'un quart des consultations de médecine et de un tiers des journées de travail perdues. Elles représentent trois quarts des problèmes de pathologie infectieuse des généralistes. Les virus sont les agents étiologiques les plus fréquents, mais la distinction entre infection bactérienne et virale est difficile (infection virale compliquée de surinfection bactérienne). La majorité des infections respiratoires aiguës sont communau-taires.

Les infections respiratoires communau-taires seront envisagées, à l'exclusion de la tuberculose ni des infections respi-ratoires abcédées, opportunistes ou noscomiales. En pratique clinique, il est possible de distinguer schématiquement : (1) les pneumopathies dites à « foyer systématisé » (opacité parenchymateuse limitée par une scissure) pour lesquelles les principales étiologies bactériennes sont *Streptococcus pneumoniae, Legionella pneumophila* et rarement *Haemophilus influenzae* ;(2) les pneumo-pathies dites « atypiques » où l'opacité radiologique ne correspond pas à un foyer systématisé mais à des opacités diffuses associés habituellement à un syndrome interstitiel.



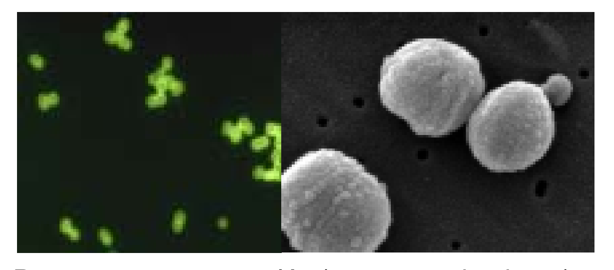
Fréquence des pneumocoques et des hémophiles selon l'âge

Dans ce cas, les principales étiologies bactériennes sont *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydiae pneumoniae* et *L. pneumophila.* Cette distinction pratique, qui est toujours rattachée à l'histoire de la maladie et au tableau clinique, oriente la recherche étiologique vers une bactérie ou une famille de bactéries permettant d'instau-rer un traitement antibiotique probabiliste.

Streptococcus pneumoniae

S. pneumoniae (pneumocoque) est un pathogène majeur pour l'homme, responsable de nombreuses infections graves. Il est responsable d'environ 50 %des pneumopathies, 20 % des méningites bactériennes , et 30-40 % des otites moyennes aiguës. Il pose un problème de santé publique majeur du fait de l'apparition de souches résistantes à la pénicilline G. Les patients à risque peuvent bénéficier d'une vaccination.

S. pneumoniae est un diplocoque à Gram positif, à multiplication extracel-lulaire. Il donne en 24h sur milieu enrichi (sang) des colonies de 1-2 mm, α-hémolytiques (halo verdâtre autour de la colonie) sans catalase.



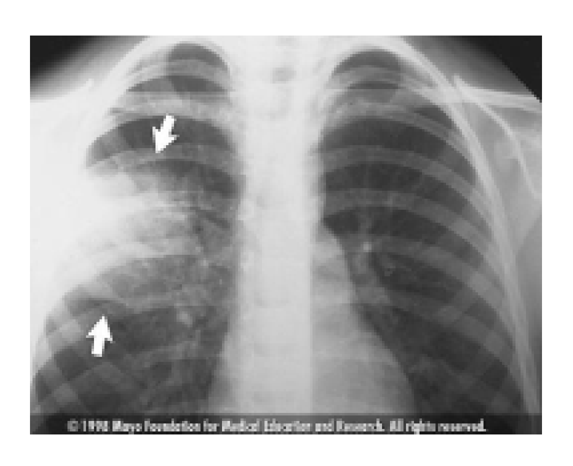
Pneumocoques capsulés (contraste de phase) et en diplocoques (microscope à balayage).

Comme les autres espèces de la famille des streptocoques, la paroi est constituée d'un peptidoglycane et d'acide lipoteïchoique, mais il seul possède une capsule polyosidique qui est un déterminant majeur de sa virulence. Il existe plus de 84 sérotypes capsulaires différents. Certains sérotypes

(23F,19F,6B,14) sont souvent rencontrés dans la population et sont souvent associés à une résistance aux antibiotiques.
S. pneumoniae est un hôte normal habituellement retrouvé dans le nasopharynx chez de nombreux porteurs sains, à raison de 30-50% d'enfants et de 5-10% d' adultes. L'importance de la colonisation est soumise à des variations saisonnières avec des pics en période hivernale qui est la période de forte incidence des infections pulmonaires. La transmission de *S. pneumoniae* est interhumaine, mais généralement elle ne se fait pas sur un mode épidémique

Pneumonathies à pneumocoques

S pneumoniae est responsable d'infections respiratoires ORL et pulmonaires. Ce germe est impliqué dans 50-90% des cas de pneumonie aiguë ou ''pneumonie franche lobaire aiguë''. Dans sa forme typique, son début est soudain, avec frissons, fièvre à 39-40 °C, toux, expectoration purulente, douleurs thoraciques unilatérales. La radiographie révèle presque toujours l'atteinte d'un seul lobe (75-90 p. 100 des cas). Chez l'adulte jeune, l'évolution est habituellement favorable en 8 à 10 jours avec chute brutale de la fièvre et amélioration rapide de l'état général. Le pronostic est excellent grâce aux antibiotiques. Chez les sujets dont le système immunitaire répond normalement, il est rare que les lésions évoluent vers l'abcédation et la destruction du tissu pulmonaire. Dans ce cas, il est important de rechercher une tumeur ou un corps étranger expliquant la formation de l'abcès. Le pronostic est beaucoup plus réservé chez le vieillard et l'immunodéprimé.
Plus rarement, l'atteinte pulmonaire peut réaliser un tableau de bronchite aiguë catarrhale sans atteinte parenchy mateuse, avec toux et expectoration muco-purulente. Cette bronchite aiguë qui ne se distingue pas cliniquement des



Pneumonie franche lobaire aiguë à pnenmocoques

autres bronchites aiguës bactériennes ou virales, est en règle régressive, mais peut donner lieu à des rechutes, à des formes subaiguës traînantes ou des broncho-pneumonies en foyers. Leur pronostic est parfois redoutable chez le nourrisson (bronchite capillaire), le vieillard ou l'immunodéprimé.

Physiopathologie des infections à *S. pneumoniae*

Colonisation de la muqueuse respiratoire

L'étape initiale du processus infectieux est la colonisation de l'oropharynx . Les bactéries adhérent à l'épithélium par des adhésines reconnaissant des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales. Cette colonisation peut progresser de proche en proche vers les bronches, mais aussi vers l'oreille moyenne par l'intermédiaire des trompes d'Eustache. Lorsque la propagation de la colonisation est contrôlée localement par l'immunité innée, la colonisation reste asymptomatique. L'absence ou l'insuffisance des mécanismes locaux de défense favorisent la division bactérienne et sa dissémination vers les voies respiratoires basses où elle peut déclencher une infection connue sous le nom de pneumopathie franche lobaire aiguë (PFLA). Plusieurs facteurs favorisent la diffusion de l'infection : (1) l' allergie qui

provoque un oedème des muqueuses et perturbe le drainage des trompes d'Eustache et des sinus ;(2) une infection intercurrente virale ou à *Haemophilus influenzae*, qui provoque des lésions de l'épithélium et favorise l'adhésion et l'invasion bactérienne ; (3) le tabagisme chronique qui provoque une dysfonction ciliaire et perturbe le drainage de l'épithélium bronchique

Echappement à la phagocytose

En l'absence d'anticorps anticapsulaires spécifiques ou de certains facteurs du complément , *S. pneumoniae* n'est que faiblement phagocyté in vivo. La capsule joue un rôle déterminant lors de l'échappement à la phagocytose et constitue ainsi un facteur majeur de la virulence bactérienne au cours du processus infectieux. Les anticorps spécifiquement dirigés contre la capsule opsonisent la bactérie et favorise sa phagocytose. Ils constituent ainsi l'élément principal de la défense anti-pneumococcique. Cependant leur taux n'est détectable que 5 à 8 jours après le début de l'infection et la prévalence de ces anticorps est faible au sein de la population.Toutefois, la faible prévalence des infections aiguë à *S. pneumoniae* s'explique par la production d'anticorps anti-capsulaire pendant la phase de colonisation en 2-3 semaines. L'importance du rôle joué par la production d'anticorps anti-capsulaires permet de comprendre que tout déficit de l'immunité humorale puisse favoriser une infection sévère à *S. pneumoniae.* D'autres facteurs bactériens peuvent également contribuer à la physiopathologie du processus infectieux, notamment la pneumolysine (α-hémolysine) et l'autolysine. Ces toxines jouent cependant un rôle secondaire par rapport à celui de la capsule.

Réaction inflammatoire intense

L'infection par *S pneumoniae* est caractérisée par une réaction inflammatoire intense avec une prépondérance de polynucléaires neutrophiles (PNN). L'attraction des PNN est due au C5a produit massivement à la suite de l'activation de la voie alterne du complément par les constituants de la paroi (peptigoglycane, acide lipoteichoïque) et par les polysaccharides capsulaires de *S. pneumoniae.* La rate joue un rôle important au cours de la défense anti-pneumococcique. Le tissu splénique participe à la clairance des bactéries non-opsonisées en raison de la faiblesse du débit sanguin et du contact prolongé avec le système réticulo-endothélial. Tout asplénisme, qu'il soit fonctionnel ou anatomique, constitue un facteur de risque majeur pour les infections à *S. pneumoniae* avec le plus souvent des tableaux cliniques extrêmement sévères et d'installation suraiguë.

Terrains favorisant les infections à pneumocoque

Certaines pathologies sont à prendre en compte par la sévérité et la fréquence anormalement élevée des infections à *S. pneumoniae* :(1) les déficits de la production d'anticorps : primaires (agammaglobulinémie, déficit dans certaine sous classe d'IgG…), ou secondaires (SIDA, myélome, syndrome néphrotique…) ; (2) les déficits en complément (CI, C2, C3, C4) ;(3) les neutropénies (défaut de la clairance des pneumocoques circulants) ;(4) les asplénies primaires (asplénie congénitale, hyposplénie.. ;) ou secondaires (splénectomie, drépanocytose…). D'autres circonstances favorisantes sont multifactorielles : âges extrêmes, cirrhose, diabète, asthme, tabagisme chronique, broncho-pneumopathie chronique obs-

tructives (BPCO), insuffisants cardiaques, corticothérapie.

Diagnostic d'une infection à pneumocoque.

Le diagnostic bactériologique d'une infection pulmonaire à pneumocoque repose sur l'identification de la bactérie dans divers prélèvements : (1) les hémocultures qui ne sont positives que dans 25 à 30 % des cas de pneumopathies ; (2) les expectorations ou prélèvements par aspiration naso-trachéale, d'interprétation délicate en raison de la fréquence du portage asymptomatique de *S. pneumoniae*. Néanmoins moyennant quelques précautions, l'analyse d'une expectoration peut constituer une aide importante au diagnostique. Il faut s'assurer par l'examen microscopique (X100) après coloration de Gram qu'il s'agit bien d'une expectoration et non de salive, attestée par la présence de cellules inflammatoires (PNN) à un taux > 25 cellules/champ , sans cellules épithéliales < 25 cellules /champ, avec généralement une flore bactérienne où prédomine des diplocoques à Gram positif. Cette prédominance de *S. pneumoniae* est retrouvée en culture.
(3) les prélèvements pulmonaires protégés sont des prélèvements invasifs le plus souvent réalisés sous fibroscopie par des équipes spécialisées. Ils permettent de prélever les sécrétions bronchiques dans les voies aériennes basses sans que celles-ci ne soient contaminées par les sécrétions des voies aériennes supérieures. L'isolement d'une souche de *S. pneumoniae* à un titre > 10^3 CFU/ml permet le plus souvent de faire le diagnostic étiologique. Cependant il est rarement nécessaire de recourir à ces techniques pour faire le diagnostic d'une infection pulmonaire communautaire ; (4) le prélèvement d'un épanchement pleural se fait par ponction.

En cas d 'épanchement, *S. pneumoniae* est souvent retrouvé.

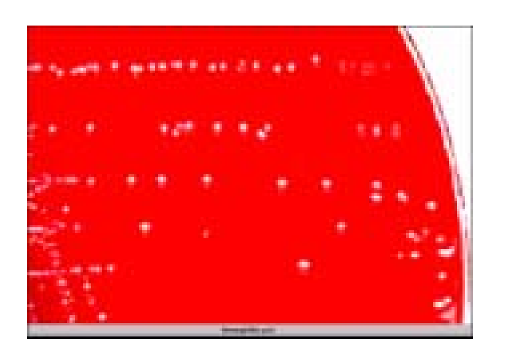
Traitement des infections à *S pneumoniae.*

Lorsque *S. pneumoniae* est sensible à la pénicilline, les pénicillines A (ampicilline et amoxicilline) reste le traitement de référence. Cependant, l'augmentation de la résistance aux β-lactamines de *S. pneumoniae* constitue actuellement un réel problème de santé publique, car il remet en cause l'attitude thérapeutique devant ces infections très fréquentes. La pénicilline G a été en effet utilisée pendant 50 ans avant que n'apparaisse une diminution de la sensibilité de *S. pneumoniae*. L'augmentation croissante des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) depuis une dizaine d'année reflète la sélection de souches ayant subit des mutations spontanées et des transformations sur leurs gènes codant pour les PBPs, (*Penicilline-Binding-Protein*),enzymes qui synthétisent le peptidoglycane. Ces altérations des PBPs obligent à utiliser des concentrations plus importantes de pénicilline devenues nécessaires pour saturer ces enzymes.
Les CMI (concentration minimales inhibitrices) des souches sensibles de *S. pneumoniae*. pour la pénicilline G sont inférieures à 0,1 mg/ L. Les souches intermédiaires ont des CMI entre 0,1 et 1 mg/ L. Les souches résistantes ont des CMI égales (et rarement supérieures) à 2 mg/ L. En pratique en dépit de la progression de cette résistance, beaucoup de souches restent sensibles ou intermédiaires (CMI<1mg/), et l'augmentation des doses de β-lactamines est le plus souvent suffisante pour traiter ces infections, à l'exception des méningites. Les souches ayant un haut niveau de résistance à la pénicilline avec des CMI à 2 mg/L sont de traitement beaucoup plus difficile car cette résistance est souvent associée à une

résistance pour des antibiotiques d'une autre famille (érythromycine, chloramphénicol,clindamycine,trimetoprime-sulfamethoxazole. La vancomycine, la pristinamycine la rifampicine et certaines nouvelles quinolones (chez l'adulte) restent actives.
On suspecte la présence d'une souche de PSDP chez les patients ayant reçu un traitement par des β-lactamines dans les 3 derniers mois, ceux ayant été récemment hospitalisés, et encore les jeunes enfants gardés en crèche. Les alternatives thérapeutiques (en dehors des méningites) en cas de PSDP sont l'augmentation des doses de pénicilline A (200-300 mg/kg/j), l'utilisation d'une céphalosporine de 3ème génération (céfotaxime, ceftriaxone),de la vancomycine

Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae est un petit bacille à Gram négatif (1-2 x 0.3 μ), exigeant pour croître des facteurs contenus dans le sang (le NAD [facteur V] et l'hémine [facteur X]), pathogène à multiplication extracellulaire, résistant à la phagocytose. *H. influenzae* est une bactérie aéro-anaérobie, immobile et parfois capsulé. La capsule est un facteur majeur de virulence. Il existe 6 antigènes capsulaires (sérotypes a, b, c, d, e, f). La nécessité en facteurs V et X permet de distinguer *H. influenzae* de *H. parainfluenzae* qui ne requiert que le facteur V.



Colonies de *H influenzae* sur gélose au sang

Infections à *H influenzae*

H influenzae est une cause majeure d'infections ORL (otites, sinusites…), et est rarement impliqué dans les pneumonies aiguës (2-18% des cas). En revanche, il est souvent en cause dans les surinfections bronchiques,notamment lorsqu'il existe une broncho-pneumoathie chronique (BPCO, mucoviscidose). L'incidence des infections pulmonaires à *H. influenzae* chez l'enfant est probablement inférieure 2 %. Chez l'adulte, l'incidence est difficile à déterminer dans la mesure où l'infection respiratoire à *H. influenzae* est fréquemment associée à *S. pneumoniae.*

Physiopathologie des infections à *H influenzae.* et immunité

Haemophilus influenzae est une bactérie pathogène à multiplication extracellulaire, résistant à la phagocytose. La 1ère étape est la colonisation du tractus respiratoire.
Les bactéries adhèrent aux cellules épithéliales et au mucus et stimulent la production de mucus, d' histamine, et de médiateurs pro-inflammatoires (Il-8, Il-6, TNF-α).

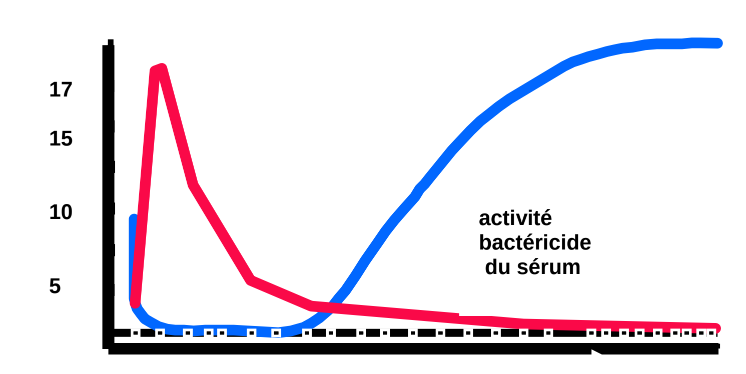



Epithélium cilié respiratoire non colonisé (gauche) et colonisé par *H influenzae*.

Puis, les bactéries envahissent l'épithélium respiratoire et peuvent disséminer donnant des septicémies avec métastases. Parmi les nombreux facteurs de virulence, il faut citer un lipo-oligosaccharide cytotoxique et ciliotoxique, stimulant la réponse inflammatoire, des adhésines (fimbriales [Hia, Hap] et non-fimbriales [OMP2, OMP5, HMW1,HMW2]), une capsule polysaccharide anti-phagocytaire et les IgA protéases. L'immunité anti-*H influenzae* est humorale, avec production d'anticorps anti-capsulaires et anti-adhésines et anti-oligosaccharides. Ces anticorps sont protecteurs. Après colonisation du naso-pharynx, les souches capsulées sont rapidement éradiquées et remplacées par des souches persistantes sans capsule.

Epidémiologie des infections à *H influenzae.*

H. influenzae est une bactérie de la flore commensale du pharynx strictement inféodée à l'homme qui est le seul réservoir connu. L'exposition à *H. influenzae* commence dès la naissance et la colonisation est généralement importante tôt au cours de l'enfance et persiste malgré la prise d'antibiotiques. A l'âge adulte, environ 80 % des sujets sont porteurs sains de souches non-capsulées de *H. influenzae*. Cette notion est essentielle car il est normal de l'isoler à partir d'un prélèvement des voies respiratoires supérieures. Cependant seulement 3 - 5 % des personnes sont colonisés avec des souches capsulées donc virulentes, dont 2-4% à *H influenzae* b et 1-2% *H influenzae* b (a, c-f). La transmission interhumaine se fait l'inhalation de gouttelettes de salive ou par le contact direct avec des sécrétions contaminées. Parmi les 6 sérotypes capsulaires, le sérotype b est le plus fréquent et le plus pathogène. Les souches non-capsulées sont rencontrées dans les surinfections bronchiques, les otites et les sinusites. Les souches capsulées b sont responsables de méningites, épiglottites, arthrites septiques et pneumopathies. Les souches de sérotypes a, c-f sont rarement pathogènes.



Diagnostic des infections à *H influenzae*

Le diagnostic bactériologique d'infection respiratoire à *H. influenzae* repose sur l'isolement et l'identification de la bactérie à partir d'un prélèvement pulmonaire protégé afin d'éviter tout contamination par la flore commensale du pharynx. Devant une pneumopathie, l'isolement de *H. influenzae* dans le sang par hémoculture (rarement par ponction pleurale en cas d'épanchement pleural)

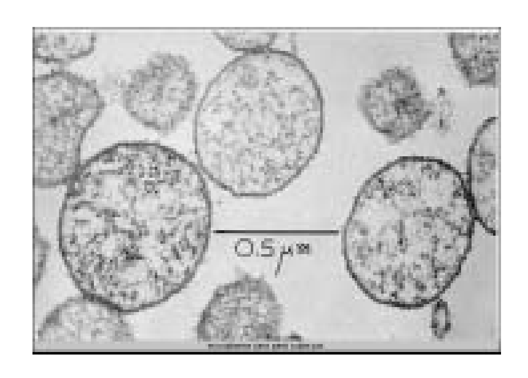
permet d'impliquer la bactérie comme agent étiologique de l'atteinte du parenchyme pulmonaire.
L'étude de la sensibilité aux antibiotiques permet d'observer qu'environ 30-40% des souches de *H. influenzae* produisent une β-lactamases type TEM-1 (90%) ou ROB-1 (10%). Il existe des souches résistantes à l'amoxicilline-acide clavulanique sans production de β-lactamases, par altération des PBPs (actuellement <1%). Les taux de résistances aux autres Augmentin®). Les autres antibiotiques habituellement actifs sont les céphalosporines de 2ème génération (céfixime, cefpodoxime, céfuroxime) et de 3ème génération (céfotaxime, ceftriaxone) qui résistent aux β-lactamases, les macrolides (azitromycine, clarythromycine), une quinolone (chez l'adulte) ou le trimetoprime-sulfametoxazole (Bactrim®).

Mycoplasma pneumoniae

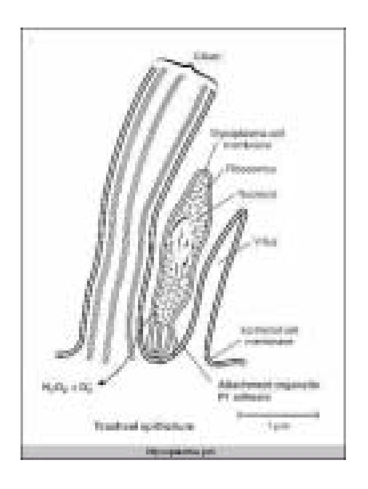
Les mycoplasmes sont des bactéries sans paroi, responsables de pneumopathies atypiques à agglutinines froides et d'infections sexuellement transmissibles. La pneumopathie atypique est due à *Mycoplasma pneumoniae* (agent de Eaton).

Les mycoplasmes

Les bactéries du genre *Mycoplasma* sont les plus petites bactéries connues. Leur taille varie entre 100 et 250 nm. Ils se caractérisent par l'absence de paroi rigide (pas de peptidoglycane), ce qui explique leur morphologie variable et leur capacité à passer à travers les filtres.



Mycoplasma pneumoniae sans paroi



Implantation de *M pneumoniae* dans les cellules épithéliales

Il s'agit de bactéries intracellulaires facultatifs, capables de croître en milieux acellulaires. Le genre *Mycoplasma* se différentie des autres genres bactériens par la richesse de la membrane en stérols, l'absence d'homologie du DNA avec d'autres bactéries connues, un génome de très petite taille (600 Mb) et de faible CG %. Leur croissance est lente, l'apparition des colonies nécessitant 5-20 jours. Ces colonies ont un centre plus dense que la périphérie donnant un aspect en « oeuf frit ». En revanche, l'aspect des colonies de *M. pneumoniae* est celui d'une mûre. Ces bactéries sont ubiquistes et colonisent de nombreuses espèces animales et végétales. Parmi les espèces du genre *Mycoplasma*, seules une dizaine ont été décrites chez l'homme et *M. pneumoniae* est la plus importante des espèces pathogènes
Infections respiratoires à *M pneumo-niae*.

Le tableau clinique associe fièvre à 38-39° C , malaise, toux sèche, incessante, invalidante.



Pneumopathie à *M pneumoniae*

A l' examen clinique, on trouve quelques râles. La radio pulmo-naire détecte des opacités hétérogènes localisées, réticulo-micronodulaires, de topographie hilo-basale. la numération sanguine normale ou montre une neutropénie modérée. L'évolution est traînante en l'absence d' antibiothérapie adaptée (tétracyclines, macrolides).

Epidémiologie des infections à myco-plasmes

La plupart des infections à *M. pneumoniae* surviennent sporadiquement ou au sein d'une même famille. La transmission est exclusivement interhumaine à la suite de contacts étroits ou par l'inhalation de gouttelettes projetées par la toux. Le mode d'expression de la maladie peut ainsi se faire sous la forme de mini-épidémie, notamment dans les écoles et les casernes militaires. Les études sérologiques réalisées sur la population ont démontré qu'il existait une incidence importante (estimée à 1 ‰ habitant) des infections à *M. pneumoniae*. La plupart de ces infections sont asymptomatiques ou provoquent une infection respiratoire sans atteinte du parenchyme pulmonaire. Les infections à *M pneumonie* surviennent à tout âge, avec une incidence plus forte chez les enfants et l'adultes jeunes entre 5 -25 ans. Rare chez le nouveau-né, l'infection respiratoire est souvent grave. Il existe une faible augmentation de l'incidence des infec-tions pulmonaires à la fin de l'été et en automne, correspondant probablement à la rentrée scolaire.

Physiopathologie des infections à *M. pneumoniae.*

Les souches virulentes de *M. pneumoniae* ont une affinité très importante pour l'épithélium respiratoire (trachée, bronches et tissus péri-bronchiques), auquel elles adhèrent, induisant sont une infection respiratoire des voies aériennes basses sans atteint du parenchyme pulmonaire. Cette affinité dépend de la protéine P1 (168 kDa) de *M. pneumoniae* qui interagit avec les résidus d'acide neuraminique des cellules épithéliales. L'adhérence ne conduit pas à l'internalisation des bactéries qui restent extracellulaire. En revanche la production de radicaux libres de l'oxygène par *M. pneumoniae* provoque une dysfonction des cellules ciliées et une desquamation massive de la surface épithéliale suivi d'une inflammation péri-bronchiolaire à prédo-minance de polynucléaires neutro-philes, expliquant l'intensité de la toux caractéristique du tableau clinique. L' atteinte du parenchyme pulmonaire, lorsqu'elle existe, est caractérisée par la formation de membrane hyaline dans les espaces alvéolaires associé à de nombreuses zones ischémiques (infarc-tus pulmonaires). A la symptomatologie respiratoire qui domine le plus souvent le tableau clinique, s'associent de nom-breux signes extra-respiratoires (cuta-nées, cardiaques, neurologiques ...)

Diagnostic de M. pneumoniae

La culture possible des mycoplasmes est possible sur milieux acellulaires (gélose-bouillons) à partir de prélèvement de gorge ou prélèvement bronchique protégé sous fibroscopie . Cependant du fait de la difficulté d'isoler *M. pneumoniae* dans les prélèvements respiratoires, la détection de *M pneumoniae* par PCR dans les prélèvements pulmonaires peut être une aide précieuse au diagnostic : c'est une méthode simple, rapide et très sensible (sensibilité et spécificité 90 -95 %). En fait, le diagnostic est en pratique bien souvent basé sur les tests immunologiques (sérodiagnostic et agglutinines froides).

Le sérodiagnostic de *M. pneumoniae* permet de mettre en évidence l'apparition d'anticorps spécifiques une ascension des anticorps anti-*M. pneumoniae* (ELISA) entre 2 sérums prélevés à 15 jours d'intervalle (séroconversion) ou une ascension du titre de ces anticorps. La détection des anticorps de type IgM et IgG permet de distinguer une primo-infection d' une ré-infection.

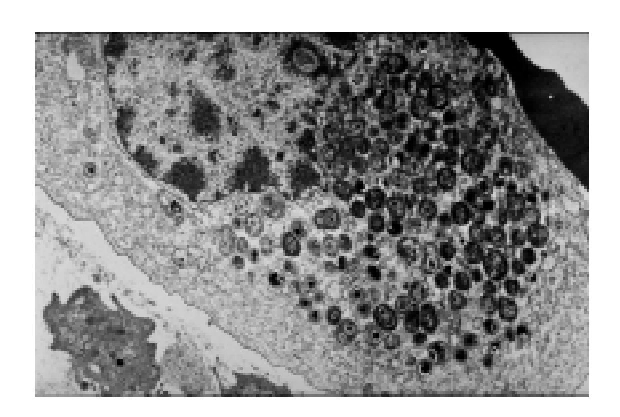
La recherche d'agglutinines froides détectant un titre égal ou supérieur à 1 / 32 est très en faveur d'une infection à *M. pneumoniae*. Cependant, la présence d'agglutinines froides peut également être retrouvée dans d'autres pneumo-pathies atypiques, notamment virales (EBV, CMV...).

Traitement des infections à *M pneumoniae.*

Du fait de l'absence de paroi, les β-lactamines sont inefficaces. Les antibiotiques de référence sont les tétracyclines (doxycycline) et les macrolides (érythromycine). Les fluoroquinolones (ofloxacine et cipofloxacine) sont également efficaces.

Les Chlamydiae

Les bactéries de genre *Chlamydia* sont bactéries à Gram négatif en raison de la structure de la membrane externe (OM) avec du lipopolysaccharide (LPS), à croissance intra-cellulaires stricte. Le genre comprend 3 espèces *Chlamydia trachomatis* , *Chlamydia psittaci* et *Chlamydia pneumoniae.*



Chlamydiae dans une cellule épithéliale

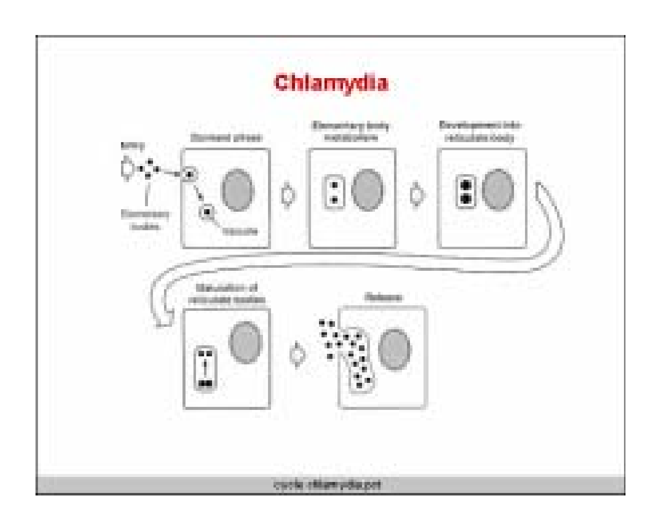
Chlamydioses

C. psittaci, C. trachomatis et *C. pneumoniae* sont responsables d'infections pulmonaires. Certaines souches de *C. trachomatis* sont responsables du trachome ou d'infections sexuellement transmissibles. On distingue 15 séroptes de *C trachomatis* avec différentes expressions cliniques.

Espèces	*C.trachomatis* 15 sérotypes	*C.psittaci*	*C.pneumoniae*
hôtes	homme	oiseaux mammifè-res homme	homme
Pathogénicité	Trachome A B Ba C infections génitourinaires D- K lymphogranu-lomatose L1 L2 L3	ornithose psittacose	infections broncho-pulmonaires

Physiopathologie des chlamydioses

Les *Chlamydia* sont des bactéries à croissance intracellulaires strict caractérisés par un cycle intracellulaire biphasique. Dans le milieu extracellulaire, les bactéries sont incapables de se diviser et adopte une forme dense appelée corps élémentaires (de 0.3 µ de diamètre). Les corps élémentaires interagissent spécifiquement et sont phagocytés par les cellules épithéliales de l'hôte. Dans le phagosome, la bactérie se réorganise en une forme plus grande (1 µ) et moins dense appelée corps réticulés qui se divisent dans la cellule en formant des inclusions cytoplasmiques caractéristiques et visible au microscope optique. Cette croissance est associée à une inhibition de la fusion phagolysosomale.



Cycle de multiplication des *Chlamydia*

Les corps réticulés osmotiquement très instables ne peuvent eux-mêmes infecter une cellule adjacente mais les vacuoles les contenant peuvent se répartir entre les cellules qui continuent de se diviser. Malgré cette relative bonne tolérance des cellules à l'infection, la lyse cellulaire survient avec libération de corps élémentaires qui contribuent à la diffusion à l'épithélium et à la pérennisation de l'infection. Les infections à *Chlamydia* souvent bien tolérées évoluent sur un mode aiguë (pneumopathies, uréthrites..) ou chronique (salpingites, infections asymp-tomatiques). La présence de *Chlamydia* intracellulaires suscite une réaction inflammatoire dans l'épithélium qui contribue aux lésions épithéliales, avec afflux de macrophages et de lymphocytesT cytotoxiques qui détruisent les cellules infectées exprimant les antigènes de *Chlamydiae*.

Epidémiologie des chlamydioses pulmonaires

Contrairement à *C. psittaci*, le réservoir de *C. pneumoniae* est exclusivement humain. La transmission inter-humaine se fait par voie aérienne. Les infections à *C. pneumoniae* existent sous forme endémique avec des pics périodiques d'incidence correspondant à des périodes épidémiques pouvant durer de 4 mois à 2-3 ans. La séroprévalence des anticorps anti-*C. pneumoniae* dans une population adulte (>20 ans) est de 40 à 60%, témoignant d'une exposition fréquente et continue à *C. pneumoniae.* L'incidence des infections aiguës diagnostiquées par une séroconversion est variable en fonction de l'âge et du sexe. L'infection est rare chez l'enfant avant 5 ans et augmente brutalement entre 5 et 9 ans (avec l'admission à l'école), pouvant atteindre jusqu'à 9 % des enfants, puis décroît progressi-vement pour ne plus concerner que 1 % de la population adulte. La période d'incubation est très variable, de quelques jours à plusieurs mois. La plupart des infections restent asymp-tomatiques et l'incidence exacte des infections respiratoires à *C. pneumoniae* est difficile à établir. Néanmoins, elle est estimée à 1‰ habitants / an et représente la 4ème cause d'infection communautaire des voies respiratoires basses.

Diagnostic des chlamydioses

La recherche de *C. pneumoniae* est faite dans les sécrétions rhino-pharyngées, dans les produits de grattage de la muqueuse nasopharyngées ou encore à partir des sécrétions obtenues par prélévement bronchique protégé sous fibroscopie. L'isolement de la bactérie est difficile requérant des cultures cellulaires (lignées HeLa, McCoy, Hep-2), rarement possibles en routine.
La mise en évidence directe de *C. pneumoniae* par immunofluorescence directe dans les cellules épithéliales recueillies par grattage est peu sensible et la recherche d'antigènes solubles est peu spécifique. L'amplification par PCR de séquences de *C trachomatis* ou *C. pneumoniae* dans les sécrétions nasopharyngées est un appoint important au diagnostic de ces bactéries à croissance difficile.
En pratique, le diagnostic reste surtout basé sur la mise en évidence d'anti-corps anti-*Chlamydiae*. Un diagnostic de certitude peut venir de la mise en évidence d'une séroconversion à partir de 2 sérums (précoce et tardif) prélevés à 15 jours d'intervalle. Le détection des anticorps IgM et IgG anti-*C.pneumoniae* (ELISA) permet de confirmer le diagnostic de primo-infection ou de réinfection.
Le diagnostic d'infection pulmonaire à *C. psittaci* est difficile dans la mesure où le seul examen biologique disponible en pratique est la recherche d'anticorps circulants par la réaction de fixation du complément. Malheureusement, il existe de nombreux faux- positifs et faux –négatifs, et cette réaction ne permet qu'un diagnostic du genre *Chlamydia* et non celui de l'espèce *C. psittaci.*

Traitement des chlamydioses

Les *Chlamydia* sont résistantes naturel-lement aux β–lactamines et aux sulfami-des pour *C. pneumoniae*. Les deux fami-lles d'antibiotiques les plus efficaces sont celles des tétracyclines (tétracycline, doxycycline) et des macrolides (érythro-mycine, azithromycine). Les in-fections à *Chlamydiae* sont traités efficacement par tétracyclines ou macro-lides.

Legionella pneumophila

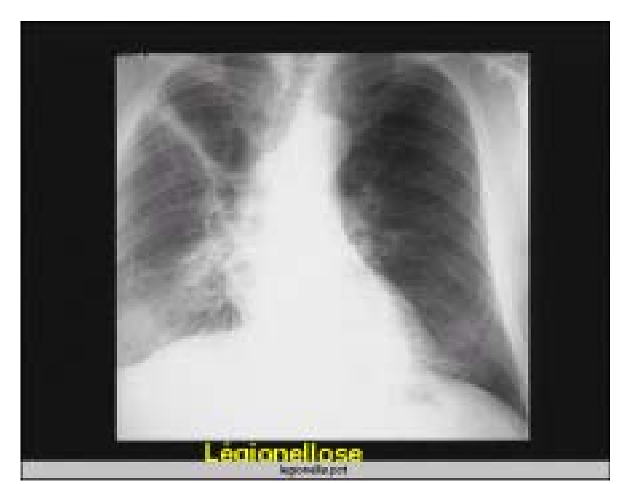
En 1976, au cours du 58ème Congrès de l'*American Legion* à Philadelphie, 221 participants logés dans le même hôtel étaient atteints d'une pneumopathie grave. Cette pneumopathie est connue sous le nom de ''maladie des légion-naires'' ou ''légionellose''. La bactérie responsable a été isolée en 1977 des tissus pulmonaires des 21 patients décédés au cours de l'épidémie. Il s'agit d'un genre et d'une espèce bactérienne inconnue, *Legionella pneumophila*. Depuis, 30 espèces de *Legionella* ont été identifiées dans l'environnement.

Les *Legionella* sont des bacilles à Gram négatif à croissance intracellulaire facultative et largement répandus dans l'environnement. Parmi les 30 espèces connus, *L. pneumophilia* (sérogroupe 1) est de loin la plus fréquemment rencon-trée en pathologie, responsables des légionelloses, infections pulmonaires graves.Les bactéries du genre *Legionella* sont des petits bacilles de 0,3-0,9 μ / 2-20 μ, non capsulées, aérobies strictes. Leur croissance est difficile et requiert des milieux (BCYE) à base de charbon (C) enrichis en L-cystéine et extraits de levure (*yeast extract* YE) assurant un apport en purine, guanine et pyrimidine. *L. pneumophila* est responsable de 90 % des infections chez l'homme, et on lui connaît 14 sérogroupes différents : les sérogroupes 1, 4 et 6 sont de loin les plus fréquents chez l'homme. Les bactéries sécrètent de nombreuses enzymes (hémolysines, protéase, phos-phatases endonucléases) qui ne semblent pas être directement toxiques pour le tissus

pulmonaire. Les autres espèces pouvant être potentiellement pathogène pour l'homme sont *L. micdaei, L. bozemanii*, et *L. dumoffii*

Légionelloses

Il existe 2 formes cliniques d'infection à *Legionella pneumophila* : la maladie des légionnaires et la fièvre de Pontiac. La maladie des légionnaires survient sur des patients fragilisés : souvent âgés >à 50 ans avec affection sous-jacente (tabac, alcool ,immunodépression, corticothérapie). Après une incubation de 2-10 jours, la maladie débute par une fièvre 40°C, myalgies, céphalées, toux sèche parfois hémoptoïque. Certains signes extra-pulmonaires (digestifs, hépatiques, neurologiques) sont évocateurs de légionellose, notamment une confusion , des hallucinations, des douleurs abdominales, des vomissements, une diarrhée. L' examen clinique est pauvre, contrastant avec la radio du thorax très altérée : infiltrats mal limités, hétérogènes, s'étendant aux deux champs pulmonaires. La mortalité est de 10-20% (> 25% après 60 ans) avec détresse respiratoire aiguë.



Légionellose pulmonaire

La fièvre de Pontiac est une infection pseudo-grippale à début brutal, sans pneumonie, d'évolution bénigne. La guérison spontanée survient en 2-5 jours. Cette infection est souvent de découverte fortuite par étude sérologique rétrospective et constitue la forme a minima de l'infection à *Legionella* du sujet immunocompétent.

Epidémiologie de la légionellose

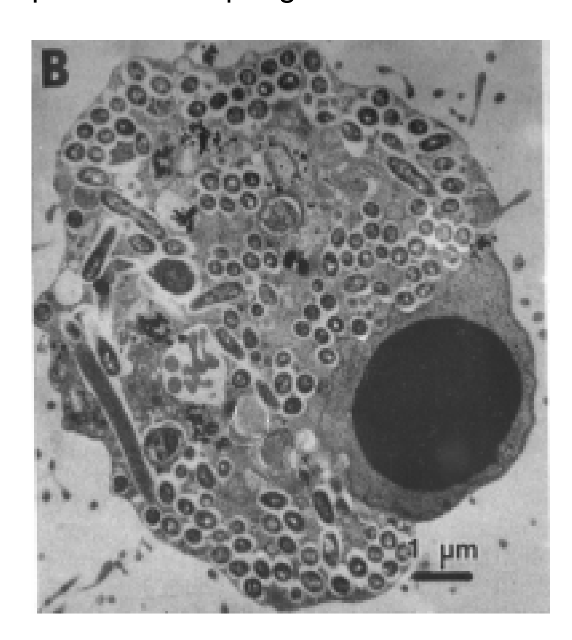
Il s'agit de bactéries saprophytes de l'environnement, ubiquiste, ayant une prédilection pour les milieux aquatiques (rivières, lacs, eaux thermales, eaux polluées...) qui constituent son réservoir naturel. Elle peut survivre à des conditions très variables de température (0-63°C) et de pH (5.5 - 8.5). Elle peut aussi parasiter les amibes de l'environnement dans lesquelles les bactéries survivent et se multiplient. Ces amibes qui peuvent s'enkyster sont une niche écologique pouvant protégeant les bactéries des environnements hostiles.

Les principales sources de contamination pour l'homme sont les systèmes d'air conditionné, les circuits de distribution d'eau chaude (canalisations d'eau potable et notamment les douches) , les bains bouillons, les eaux thermales. Cette colonisation des canalisations d'eau et des circuits de refroidissement des systèmes de climatisation dépend de nombreux facteurs, notamment: la température élevée de l'eau (eau thermale, circuit de refroidissement..), l'accumulation de sédiments qui stimulent la croissance d'une flore commensale, l'existence d'une microflore commensale jouant un rôle symbiotique en fournissant les éléments nécessaires à la croissance de *L. pneumophila*.
La transmission à l'homme se fait par l'inhalation d'aérosols contaminées et mis en suspension dans l'environnement. Il n'existe pas de transmission inter-humaine et le portage sain est exceptionnel. La maladie évolue le plus souvent sous forme épidémique (à l'hôpital), mais on rencontre de plus en

plus souvent de cas sporadiques notamment chez les patients immunodéprimés.

Physiopathologie de la légionellose

La légionellose survient volontiers chez les patients ayant un déficit de l'immunité cellulaire : greffés, patients atteints de SIDA, patients ayant une leucémie à tricholeucocytes, immunodéprimés pour chimiothérapie... La contamination se fait par l'inhalation d'aérosols. La bactérie adhère à la surface de l'épithélium bronchique et sont éliminées par la clairance mucociliaire de l'épithélium respiratoire. Si ce mécanisme de défense est altéré (tabagisme et alcoolisme chronique, déficit congénital de la mobilité ciliaire), les bactéries atteignent l'espace alvéolaire et sont phagocytées par les macrophages alvéolaires



Légionelles intramacrophagiques

Les *Legionella* échappent à l'activité microbicide en inhibant la fusion phagolysosomale et se multiplient au sein des phagosomes jusqu'à la lyse cellulaire. Le cycle recommence par l'infection de nouveaux macrophages. L' atteinte pulmonaire est multi-focale, caractérisée à l'examen histologique par une alvéolite et une bronchiolite riche de polynucléaires neutrophiles et de macrophages. Les polynucléaires neutrophiles (PNN) détruisent rapidement les bactéries mais leur rôle est probablement peu important, car les neutropénies ne constituent pas un facteur de risque de légionellose.

Diagnostic de la légionellose

Examen microscopique direct

Les bactéries peuvent être visualisées à partir des sécrétions respiratoires (expectorations, aspirations bronchiques par fibroscopie…) et éventuellement des liquides d'épanchements pleuraux par un examen microscopique direct en immunofluorescence : les bactéries (*L pneumophila*) sont révélées sur les frottis sur lame par des anticorps anti-*Legionnella* marqués à la fluorescéine. Le nombre de faux-positif est faible, mais ce test est peu sensible et n'est positive qu'en cas d'atteinte pulmonaire diffus.

Isolement et identification en culture

Le diagnostic est confirmé par l'isolement et d'identification des bactéries mises en culture sur milieux spéciaux (BCYE). (additionnés de charbon, de cystéine, d'extraits de levure). Les colonies de ces bactéries à croissance lente apparaissent en 3-7 jours. La culture permet de reconnaître avec certitude l'espèce en cause.

Sérodiagnostic de la légionellose

Le diagnostic est souvent confirmé par la mise en évidence d'une séro-conversion (augmentation des titres de 4 fois) entre deux sérums prélevés entre 4 et 10 semaines d'intervalle. La séro-prévalence des anticorps anti-*Legionella* est faible au sein de la population. Il est

admis qu'un seul titre élevé (≥1 /128) obtenu par la technique d'immuno-fluorescence indirecte [IFA]) est très en faveur d'un épisode infectieux aigu.

La détection des antigènes urinaires

La détection des antigènes urinaires est une méthode non invasive de diagnostic rapide. Son avantage est que le test reste positif plusieurs mois après l'épisode initial de pneumopathie et permet un diagnostic rétrospectif. Son principal inconvénient est sa spécificité pour le sérogroupe 1 de *L. pneumophila.* Les autres espèces et sérogroupes ne sont pas détectés, mais représentent moins que 20 % des infections.

La sensibilité et la spécificité des différentes méthodes de diagnostic au cours de la légionellose sont rapportés dans le tableau suivant:

Méthodes	Sensibilité	Spécificité
Immunofluorescence directe positif	80-90 %	100 %
Sérodiagnostic positif	50-70 %	96-99 %
Sérodiagnostic positif et séroconversion (1:128)	40-60 %	96-99 %
Détection d'antigènes urinaires	80 %	100 %

Traitement de la légionellose.

Le traitement de la légionellose est basé avant tout sur l'antibiothérapie. Les familles d'antibiotiques les plus efficaces sont les macrolides (érythromycine, clarythromycine) et les fluoroquinolones (pefloxacine,ciprofloxacine).L'antibiotique de choix est l'érythromycine. En cas de pneumopathie grave, il est souvent conseillé d'associer la rifampicine.

Bordetella pertussis

Bordetella pertussis est un bacille à gram négatif très fragile, strictement humaine, agent de la coqueluche, une infection bronchique avec toux. *B. pertussis* est un bacille à gram négatif à multiplication extracellulaire producteur de exotoxines. Cette bactérie exigeante est cultivable sur un milieu de Bordet-Gengou (au sang frais). La culture difficile donne des colonies en gouttes de mercure en 3-5 jours.

Coqueluche

Dans sa forme typique de l'enfant non vacciné, la coqueluche débute par une phase «catarrhale » de 10-15 jours, avec rhinorrhée, fièvre à 38°C, toux discrète mais tenace et nocturne. A cette période, les sujets sont très contagieux. Suit une phase des quintes de deux à trois semaines avec secousses répétées de toux sans reprise inspiratoire entre les secousses déclenchant des vomisse-ments, une apnée et un accès de cyanose. La reprise inspiratoire difficile ou bruyante (''chant du coq''). La maladie s'accompagne d'une lymphocytose > 10 000/mm^3 parfois 20 ou 30 000 /mm^3. On peut aussi voir des formes atypiques de coqueluche chez des adultes jeunes vaccinés et des nourrissons de < 3 mois, donnant des tableaux bâtards, souvent limités à des secousses de toux tenaces pendant plusieurs semaines. Dans tous les cas, la notion de contage est essentielle.

Physiopathologie de la coqueluche

Après contage à partir d'un patient, *B.pertussis* colonise l'épithélium cilié de l'arbre respiratoire, le nasopharynx, la trachée, les grosses bronches grâce à une adhésine, l'hémagglutinine filamen-teuse (FHA) A la période des quintes, le nombre de bactéries est très faible et la

symptomatologie est liée aux lésions de l'épithélium causées par les toxines, incluant la toxine coquelucheuse (une ADP-ribosylase) et une adénylcyclase .



Enfant en quinte de coqueluche

Epidémiologie de *Bordetella pertussis*

B.pertussis est un bacille à gram négatif strictement humain. D'après l'OMS, on dénombre près de 60 millions de cas de coqueluche par an dans le monde et 600 000 enfants meurent de cette infection. Dans les pays où la vaccination est largement réalisée (France, Etats-Unis), on assiste à une modification de l'épidémiologie de la coqueluche avec 2 pics de fréquence, avant 6 mois et âge adulte, alors qu'avant la vaccination, ou dans les pays où la vaccination n'est pas pratiquée, on observe un pic unique à 4-5 ans. Les adultes ne sont plus protégés et peuvent faire une coqueluche et devenir contagieux pour les nourrissons avant vaccination.

Diagnostic de *B pertussis*

Le diagnostic bactériologique de *B pertussis* est délicat car c'est une bactérie fragile et exigeante, souvent en faible quantité et présente pendant seulement quelques jours. Le diagnostic repose sur l'isolement et l'identification du germe en culture à partir des sécrétions naso-pharyngées, recueillies par une sonde souple, et acheminement immédiat au laboratoire. On ensemence un milieu de Bordet-Gengou (au sang frais). La culture difficile donne des colonies en gouttes de mercure en 3-5 jours.
La PCR spécifique de *B pertussis* pratiqué sur les sécrétions est un test très utile en pratique, fidèle et sensible. Le diagnostic peut être complétée par la détection d'une réponse anti-hémagglutinine filamenteuse et /ou la toxine coquelucheuse et /ou l'adényl-cyclase.

Traitement de la coqueluche

Le traitement de la coqueluche est surtout symptomatique. L'antibiothérapie est trop tardive à la période des quintes, surtout utilisée pour éviter les surinfections. Le traitement préventif est la vaccination. Le vaccin actuel constitué de bactéries tuées donne des effets secondaires (liés à la présence du LPS) doit être amélioré. De nouveaux vaccins sont en cours d'étude : un vaccin dit acellulaire à partir de la toxine coquelucheuse détoxifiée additionnés d' autres protéines (FHA) (essais en cours en Europe, États-Unis, Afrique). La réponse immune est bonne dès le 2e mois de vie. Il faudrait modifier la stratégie vaccinale. Actuellement les nourrissons reçoivent 3 injections dans les premiers mois de la vie (DT coq Polio), et le dernier rappel est à 18 mois. Il faudrait pratiquer des rappels à 10-11 ans, voire à 16-20 ans.

Les bactéries des maladies sexuellement transmissibles

Infections bactériennes sexuellement transmises

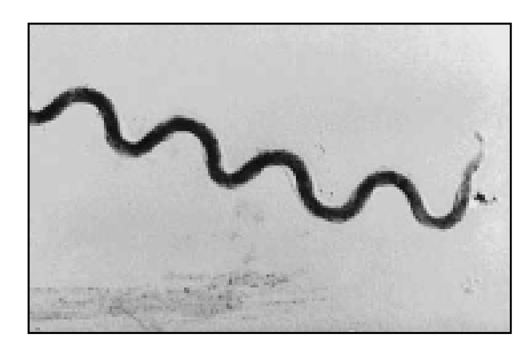
Il existe 2 types de maladies sexuellement transmissibles (MST) : (1) les maladies responsables d'ulcérations cutanéo-muqueuses : la syphilis due à *Treponema pallidum*, le chancre mou à *Haemophilus ducrei*, le lymphogranulome vénérien ou maladie de Nicolas Favre, et le granulome inguinal (donovanose). ; (2) les maladies responsables d' urétrites et de cervicites, associées à un écoulement, dues à *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae* (gonocoque) , *Ureaplasma urealyticum*.

Treponema pallidum

Treponema pallidum est responsable de la syphilis. C'est une bactérie non cultivable in vitro appartenant à la famille des *Spirochaetaceae* (comme *Borrelia* et *Leptospira*). Cette bactérie strictement humaine est transmise par contact sexuel et éventuellement par passage transplacentaire.



Examen au fond noir d'un exsudat de chancre.



T pallidum au microscope electronique

La syphilis

La syphilis primaire survient 10 jours - 3 mois après une contamination sexuelle. La lésion primaire est un chancre habituellement prépucial avec adénopathie satellite. Les bactéries disséminent par voie sanguine et donne la syphilis secondaire avec des localisations cutanées , muqueuses et méningées. Puis la syphilis devient latente. Cette période est de durée variable, de plusieurs années à plusieurs décennies. Puis peut survenir une syphilis tertiaire avec complications neurologiques (tabès…), cardiovasculaires (aortite…), ou cutanées (syphilides…).

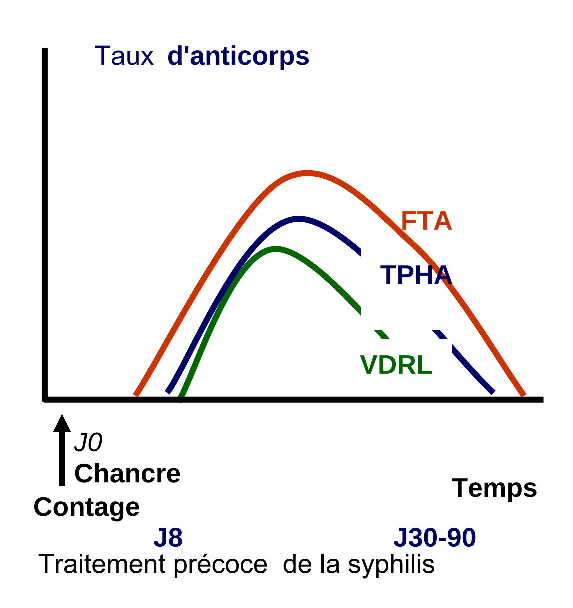


Chancre syphilitique préputial

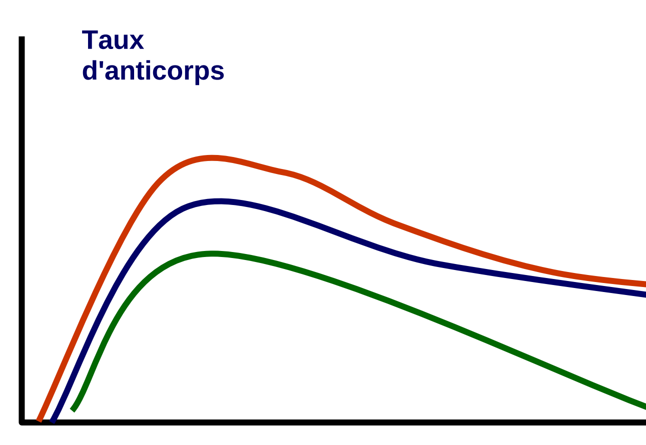
Diagnostic bactériologique de la syphilis

Le diagnostic bactériologique de la syphilis est basé à la phase primaire de la maladie sur la mise en évidence de l'agent pathogène dans le chancre d'inoculation. Ceci est réalisé par l'examen au microscope à fond noir ou en immunofluorescence directe de l'exsudat d'un chancre, d'une lésion cutanée, d'une ponction ganglionnaire. Cette examen est délicat et nécessite un prélèvement de très bonne qualité.
Le sérodiagnostic de la syphilis est un examen très précieux, souvent le seul indice d'une contamination plus ou moins récente par *T pallidum.* Il existe 2 types

de tests : (1) les tests utilisant des antigènes non tréponémiques donnant croisés avec *T pallidum* , tel que le test VDRL (antigène cardiolipidique) ; ces tests de dépistage donnent de nombreuses réactions faussement positives (collagénose, maladie virale…); (2) les tests utilisant des antigènes tréponémiques:TPHA (hémagglutination), FTA (abs) (immmunofluorescence). La sérologie cardiolipide se négative en règle générale après traitement, alors que la sérologie tréponémique peut rester positive toute la vie. En cas de traitement précoce, toutes les sérologies peuvent se négativer.



Traitement précoce de la syphilis



Traitement tardif de la syphilis

Traitement de la syphilis.

Le traitement de la syphilis est basé sur la pénicilline G très active sur les tréponèmes.

Haemophilus ducrei

Haemophilus ducrei est la bactérie responsable du chancre mou. C'est un bacille à Gram négatif appartenant au genre *Haemophilus* (comme *Haemophilus influenzae*), fragile, nécessitant pour sa croissance des milieux riches. Le chancre mou est rencontré dans le monde entier. Il est lié à de mauvaises conditions d'hygiène et un faible niveau socio-économique qui favorisent sa survenue.

Le chancre mou

Le chancre mou survient après une incubation de 4 à 10 jours et donne des lésions cutanées très douloureuses (ulcères) associées à des adénopathies.

Diagnostic du chancre mou

Le diagnostic bactériologique est basé sur la mise en évidence de la bactérie à l'examen direct des prélèvements, après grattage dans les lésions cutanées : il s'agit d'un bacille à Gram négatif intraleucocytaire à l'examen direct. La culture sur milieux riches est indispensable pour confirmer le diagnostic direct. Il n'existe pas de sérologie.

Traitement du chancre mou

On utilise le cotrimoxazole, les macrolides, les fluoroquinolone ou les céphalosporines de 3ème génération.

Calymnatobacterium granulomatis de la donovanose

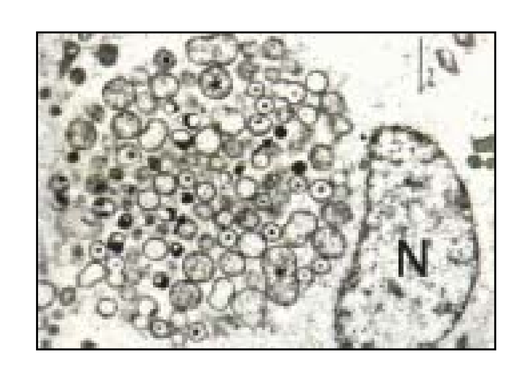
La donovanose ou granulome inguinal est une maladie rare en France, due à *Calymnatobacterium granulomatis*, bactérie à culture très difficile, nécessitant l'inoculation sur oeuf embryonnaire de poulet. Le diagnostic est affirmé sur la biopsie mettant en évidence des corps de Donovan. La maladie pet donner des lésions chroniques mutilantes. Le traitement est le cotrimoxazole.

Chlamydia trachomatis

Les espèces de Chlamydia sont des bactéries intracellulaires strictes responsables de MST et de pneumopathies. Il existe 3 espèces dans le genre Chlamydia :
(1) *C. trachomatis*, dont il existe 15 sérotypes : les sérotypes A, B, Ba et C sont retrouvés dans le trachome ; les sérotypes L1, L2, L3 sont responsables du lymphogranulome vénérien (maladie de Nicolas Favre) ; les sérotypes D à K sont responsables d' urétrites et cervicites (parfois de conjonctivites).
(2) *C. psittaci* , bactérie responsable de pneumopathies graves(psittacose).
(3) *C. pneumoniae*, qui donne des infections respiratoires très fréquentes le plus souvent bénignes.

Chlamydia trachomatis

Cette bactérie est une bactérie strictement humaine, transmise par contacts directs interhumains. Elle ne se multiplie pas sur milieux usuels car elle nécessite des cultures cellulaires, à l'instar des virus. En effet, c'est un parasite intracellulaire obligatoire , ne se multipliant qu' à l'intérieur des cellules où elle forme des inclusions cellulaires cytoplasmiques spécifiques.



Inclusions de Chlamydiae dans une vacuole cytoplasmique

Les chlamydioses.

Le trachome est la 1ère cause de cécité dans le monde (500 millions de sujets infectés dans le monde). C'est une maladie des pays du Tiers-Monde, associant une conjonctivite inflammatoire qui évolue vers la fibrose. Elle n'est pas transmissible sexuellement.

Le lymphogranulome vénérien (LGV) est une maladie sexuellement transmissible , rare dans les pays développés, avec ulcérations et adénopathie.



Lymphogranulome vénérien

Les infections génitales à *C trachomatis* sont une des principales causes de maladie bactérienne sexuellement transmissible. Chez l'homme, l'infection

se traduit par une urétrite, une prostatite, et éventuellement une épididymite. Chez la femme, l'infection survient à la suite d' une urétrite chez le partenaire. Il s'agit d'une cervicite avec leucorrhées, mais souvent l'infection est totalement latente et persistante avec salpingite torpide. Chez les deux sexes, on peut voir des conjonctivites (contamination accidentel à l'œil) et un syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter, chez les sujets HLAB27, associant urétrite, conjonctivite et arthrite.

Diagnostic des chlamydioses.

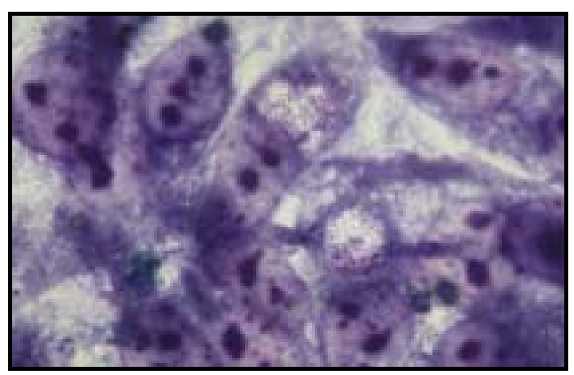
Prélèvements

Il s'agit de bactéries intracellulaires qui nécessite des prélèvements de qualité, avec grattage pour récolter des cellules épithéliales contenant de nombreuses bactéries

Chez l'homme, on réalise des prélèvements endo-urétraux. Chez la femme , on pratique des prélèvements endo-cervicaux, parfois de liquide péritonéal, ou encore les produits de grattage des trompes. On peut aussi selon la symptomatologie pratiquer des prélèvements des conjonctives ou de pus ganglionnaire (LGV). Pour le transport, les prélèvements par grattage sont déchargés dans un milieu de transport adéquate.

Examen microscopique direct

C'est une technique sensible en cas d'infection récente. On recherche des inclusions cytoplasmiques caractéristiques par coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG) et par immuno-fluorescence directe avec anticorps monoclonaux anti-*Chlamydia*.



Inclusions cytoplasmiques de Chlamydia (coloration au Giemsa)

Isolement et identification

La culture est réalisée sur culture de cellules permissives (cellules McCoy ou HeLa 229). La présence de Chlamydia est mise en évidence en 48 à 72 heures par coloration par MGG et immuno-fluorescence. Une culture positive signe l'infection. Une culture négative n'exclut pas le diagnostic : il peut s'agir d'un prélèvement tardif, incorrect ou réalisé après prise d'antibiotiques. Récemment, la détection directe de séquences de Chlamydia par PCR a été proposer. Ce test donne des résultats intéressant pour cette bactérie à croissance difficile.

Sérodiagostic des chlamydioses.

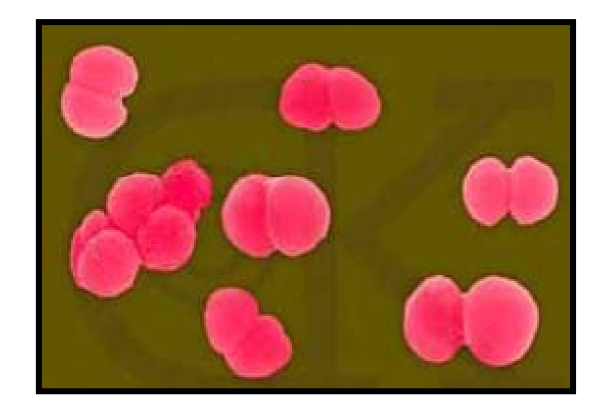
La réaction de fixation du complément met en évidence des anticorps dirigés contre l'antigène thermostable lipopoly-saccharidique commun à toutes les bactéries du genre *Chlamydia*. Des titres < 1/64 permettent d'affirmer une infection ancienne ou récente, une augmentation du titre sur 2 sérums prélevés à 15 jours d'intervalle signe une infection récente.

Les réactions d'immunofluorescence et immunoenzymatique permettent de détecter des anticorps spécifiques du genre *Chlamydia* ou spécifiques de l'espèce, selon les antigènes utilisés. Il faut rappeler la nécessité de prélever 2 sérums à 15 jours d'intervalle. Le diagnostic n'a aucun intérêt dans les infections génitale basses.

Traitement des chlamydioses.
Les chlamydioses sont traités par cyclines, macrolides , ou ofloxacine.

Neisseria gonorrhoeae

N gonorrhoeae est une bactérie à Gram négatif, en diplocoque , très proche de N meningitidis. C'est une bactérie fragile, nécessitant pour croître des milieux riches.



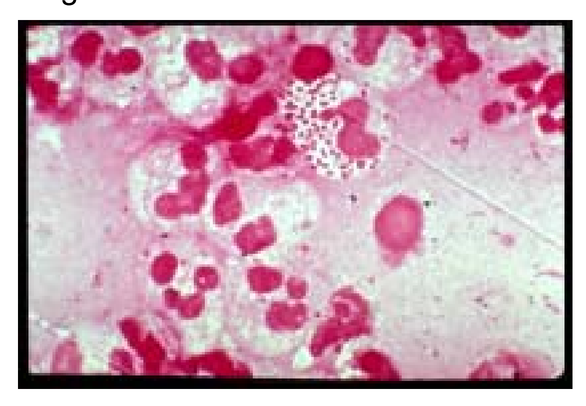
Diplocoques de *N gonorrhoeae*

Cette bactérie strictement humaine est responsable d'environ 500 000 cas d'urétrite /an en France. C'est la 2ème cause d'urétrite après *Chlamydia trachomatis*. Chez l'homme, *N gonorrhoeae* est à l'origine d'urétrites, d'épididymites et éventuellement de prostatites. Chez la femme, l'infection gonococcique induit des urétrites et cervicites, le plus souvent passant inaperçues. Chez les deux sexes, il existe des formes anorectales ou pharyngées à rechercher systématique-ment, et des conjonctivites. Des formes septicémiques (gonococcémie) sont le fait de certaines souches.

Diagnostic des gonococcies

Il repose sur la mise en évidence du germe dans es sécrétions urétro-prostatiques après massage prostatique dans les formes subaiguës et dans les prélèvements anaux et pharyngés. A l'examen microscopique direct, on détec-te la présence de coques Gram négatif , intracellulaires (bactéries en voie de destruction) et extracellulaires.
La culture sur milieux riches est indispensable pour conforter le diagnostic.

Gonocoques tués intracellulaires



Gonocoques tués dans les polynucléaires d'un pus de gonococcie



Colonies de gonocoques sur gélose au sang

Il n'existe pas de sérodiagnostic. L'association avec *Chla-mydia trachomatis* est fréquente.

Traitement des gonococcies

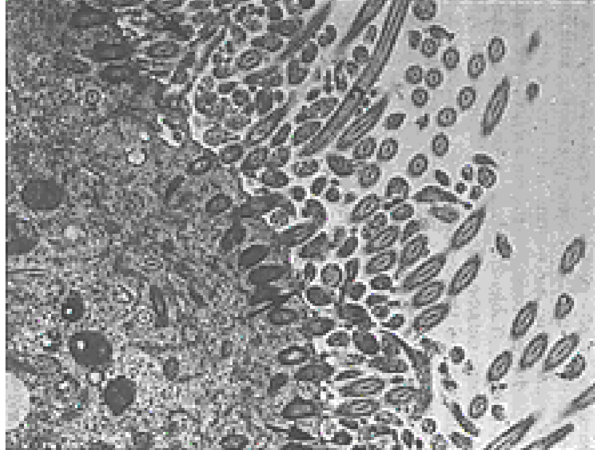
Les gonococcies sont traitées par les β-lactamines mais il existe de nombreuses résistances plasmidiques à ces anti-biotoques et aux tétracyclines. Ces formes sont traitées efficacement par les céphalosporines de 3ème génératiion , la spectinomycine ou les fluoroquinolones.

Mycoplasmes génitaux

Les mycoplasmes sont des bactéries sans paroi, nécessitant des milieux particuliers pour leur croissance in vitro (milieux hypersaccharosés). Les mycoplasmes donnent des infections génitales et pulmonaires. Les mycoplasmes sont divisés en 2 genres : le genre *Mycoplasma*, incluant *M. pneumoniae* (pneumopathies atypiques) et *M. hominis,* et le genre *Ureaplasma* , incluant *U. urealyticum.*

Les mycoplasmes

Ces bactéries sans paroi sont très petites et non observables en microscopie optique. Elles colonisent les surfaces des muqueuses de l'homme et des animaux.



Mycoplasma pneumoniae

Les enfants sont colonisés à la naissance au passage des voies génitales. Les mycoplasmes disparais-sent ensuite progressivement. Après la puberté, la colonisation est fonction des rapports sexuels. Leur rôle pathogène ne peut être retenu que si ces bactéries sont présentes en abondance. Chez l'homme , les mycoplasmes peuvent induire des urétrites subaiguës, parfois des prostatites et des épididymites. Chez la femme, on peut voir des cervicites (asymptomatique) et des complications génitales

sont possibles (salpingites) pouvant entraîner des stérilités tubaires.

Diagnostic des mycoplasmes

Prélèvements

.

Chez l'homme, on peut pratiquer un écouvillonnage urétral, un recueil du 1er jet d'urine, et éventuellement de sperme. Chez la femme, les bactéries peuvent être isolées du col utérin, du vagin, de l’urètre et de l’urine.

Isolement et identification en culture

La culture est relativement aisée sur milieux spéciaux permettant la croissance de bactéries sans paroi (milieux hyperosmolaires). Une quantification est nécessaire : on ne retient comme significatif d’une infection que des titres > 10^4 bactéries / mL dans le prélèvement. Un test utilisant une PCR spécifique donne de bons résultats. Le sérodiagnostic est peu informatif (sauf dans les infections systémiques, pulmonaires par exemple).

Traitement des infections à mycoplasmes.

Les mycoplasmes sont naturellement résistants aux antibiotiques actifs sur la paroi (pénicillines…). On utilise des macrolides ou des tétracyclines. Il existe des souches résistantes à ces antibiotiques et il est possible la sensibilité in vitro des antibiotiques..

Les bactéries des infections bactériennes du système nerveux central

Infections bactériennes du système nerveux central

Les infections du SNC peuvent toucher les méninges (méningites), et le parenchyme cérébral donnant des abcès du cerveau et des encéphalites. Les encéphalites sont en général associées à des méningites donnant des méningo-encéphalites. L'ensemencement des méninges ou du parenchyme cérébral suppose que l'agent pathogène soit capable de franchir la barrière sang-cerveau. Les mécanismes de cette étape sont inconnus.

Les méningites bactériennes.

Age	Bactéries
Nouveau-nés	***Streptococcus agalactiae* (streptocoque groupe B)** Entérobactéries (*E coli* K1 surtout) *Listeria monocytogenes*
Nourrissons et enfants < 6 ans	*Haemophilus influenzae* *Neisseria meningitidis* *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque)
Enfants > 6 ans et adultes	*Neisseria meningitidis* *Streptococcus pneumoniae*

A tous les âges de la vie, il faut redouter *Listeria monocytogenes*, surtout chez les personnes immunodéprimées et les femmes enceintes, et *Mycobacterium tuberculosis* , agent de la tuberculose. Ces deux germes ne sont pas responsables de méningites pures mais de méningoencéphalite.

Le liquide céphalorachidien (LCR) normal est ''eau de roche'', sans cellules ni hématies (<1 cellules / mm^3), contient 0,2-0,5 g/L d'albumine et un taux de glucose (glycorachie) égal à 0,6-0,8 g/L . En cas de méningite, le LCR devient inflammatoire et devient plus ou moins trouble avec une augmentation du nombre de cellules (parfois > 1000 cellules/ mm^3), avec des polynucléaires et/ou des lymphocytes. Le taux d'albumine est en général >1 g/ L (1-5 g/L). La glycorachie est souvent fortement diminuée (0-0,2 g/L).

Diagnostic bactériologique des méningites bactériennes

Le diagnostic bactériologique des méningites bactériennes repose sur la ponction lombaire (PL).

Etude macroscopique du LCR

Le LCR apparaît trouble ou louche, signant une méningite purulente bactérienne. Le diagnostic de la bactérie responsable est confirmé par l'examen direct , la recherche d'antigènes solubles et la mise en culture du LCR. L'hypercellularité atteint souvent 500-1000 cellules / mm^3 pour les méningites à *H influenzae* , *N meningitidis, S pneumoniae,* ou *L monocytogenes.* Le LCR peut être clair dans certaines méningites.

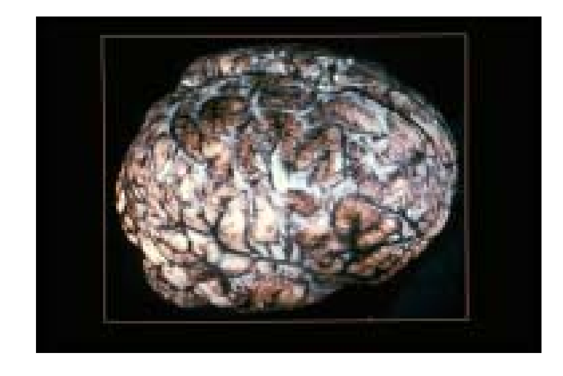
Etude biochimique du LCR

En cas de méningite à liquide clair, l'étude biochimique et cytologique du LCR revêt une importance fondamentale : typiquement la glycorachie est abaissée dans les méningites bactériennes et l' albuminorachie est en général >1g/L. L'étude cytologique révèle une hypercellularité (> 10 cellules/mm3) avec plus de 50 % de polynucléaires. Il peut s'agir d'une méningite bactérienne au tout début. Il faut considérer un tel résultat comme le témoin d'une méningite bactérienne jusqu'à preuve du contraire, surtout en cas d'hypoglycorachie et d'hyperalbumino-rachie. Le diagnostic est affirmé par l'examen direct, la détection d'antigènes solubles et la culture. Il faut éliminer l'infection bactérienne au contact

des méninges (abcès cérébral) et faire un scanner.

Etude cytologique du LCR

En cas d'hypercellularité (> 10 cellules/ mm^3) avec plus de 50 % de lymphocytes, on doit évoquer si l' albuminorachie > 1 g/L ou surtout si il existe une hypoglycorachie, une méningite bactérienne liée à un germe à multiplication intracellulaire: *M tuberculosis* (BK) ou *L. monocytogenes*. Si la glycorachie est normale, il peut s'agir :(1)d'une méningite à BK ou *Listeria*, surtout si la cellularité est importante et/ou si l'albuminorachie est > 1 g/L , le contexte clinique revêtant une importance capitale ; (2) d'une méningite bactérienne décapitée par un traitement antibiotique préalable ; (3) d'une méningite virale, avec albuminorachie < 1 g/L en général, qui reste un diagnostic évoqué après avoir éliminé les causes bactériennes.



Cerveau d'un patient décédé de méningite tuberculeuse

Etude bactériologique du LCR

L'examen microscopique direct du LCR après coloration de Gram et au bleu de méthylène permet de voir des bacilles, des coques Gram + ou Gram -, intra ou extracellulaires, associés à une réaction cellulaire plus ou moins forte à polynucléaires et lymphocytes .

On pratique une recherche d'antigènes solubles dans le LCR, le sang et les urines pour *H influenzae* type b, *N meningitidis* sérogroupe A et C, *S. pneumoniae*, *S agalactiae.*

Le LCR est ensuite cultivé systématiquement pour isoler et identifier la bactérie responsable.

Neisseria meningitidis

Neisseria meningitidis (méningocoque) est responsable de la méningite cérébrospinale. *N. meningitidis* est un coque à Gram négatif, très proche de *Neisseria gonorrhoeae* . C'est un germe fragile (froid, dessiccation), qui croît sur milieux enrichis en présence de CO_2. C'est une bactérie capsulée, possédant une capsule polysaccharidique permettant de distinguer 13 sérogroupes (A, B, C, X, Y, W135...). Cette capsule induit la production d'anticorps protecteurs qui est la base de la vaccination anti-méningococcique. Le vaccin comporte des extraits purifiés de polysaccharidique capsulaire A et C. Le polysaccharide de type B n'est pas immunogène du fait d'une parenté antigénique avec certains antigènes du cerveau. Les polysaccarides A et C ne sont pas immunogènes avant 18 mois. Donc, il n'y a pas de possibilité d'une vaccination de routine de l'enfant.

N. meningitidis est une bactérie strictement humaine, retrouvée dans le rhinopharynx des porteurs sains, soit 10 à 20 % de la population en période hivernale. La bactérie est transmise par voie aérienne. Ces infections évoluent en Europe sur un mode endémique (500 cas/an en France) avec un pic durant l'hiver. Les souches de sérogroupe B sont le plus fréquentes en France (60%), suivies du sérogroupe C (30-40%). En Afrique, la maladie évolue sur un mode épidémique et le sérogroupe A est le plus fréquent.

A partir d' un portage dans le rhinopharynx très fréquent durant l'hiver, la bactérie peut passer dans le sang dans un faible pourcentage de cas

(septicémie) et gagner les méninges, produisant une méningite. La septicémie ou la méningite peuvent être clinique-ment au premier plan.

Diagnostic d'une méningite à méningocoques.

Le diagnostic bactériologique repose sur l'isolement et l'identification du germe en culture. On pratique des hémocultures et des cultures du LCR dans lesquels la culture de méningocoques est systématique.La bactérie peut être isolée d'autres prélèvements : gorge surtout, éventuellement cutané. Il faut alors préciser la recherche de méningocoques car ce sont des prélèvements polymicrobiens nécessitant l'ensemen-cement de milieux sélectifs.Les colonies apparaissent en 24 h sur les milieux enrichis. L'identification et l'antibiogram-me nécessitent 48-72 h. La bactérie reste sensible β-lactamines, à la rifampicine, aux macrolides et au chloramphénicol. La recherche d'antigènes solubles polysaccharides est possible dans le LCR, le sang et l' urine. Il n'existe pas de sérodiagnostic.

N meningitis : bactéries tuées dans les polynucléaires

Traitement

Le traitement usuel des méningites à méningocoques repose sur l'utilisation des β-lactamines (amoxicilline). Il existe un vaccin polysaccharique. On peut réaliser des vaccinations de masse lors d'épidémie par des bactéries du sérogroupe A ou C et vacciner les sujets se rendant en zone de haute endémicité A ou C (Afrique intertropicale), surtout en cas de séjour de longue durée. L'injection d'une dose après 18 mois protège pendant 3 ans contre les sérogroupes A et C. Il n'existe pas de vaccination contre le sérogroupe B.

L'antibioprophylaxie doit être mise en œuvre dans l'entourage d'un malade (famille proche, pensionnaires d'une institution, soldats d'une caserne…). La rifampicine est l'antibiotique de 1er choix : chez l'adulte 600 mg/j pendant 2 jours, chez l'enfant > 1 mois : 10 mg/kg/jour pendant 2 jours, chez l'enfant < 1 mois , 5 mg/kg/j pendant 2 jours. En 2ème choix , si la rifampicine est contre-indiquée, on préconise la spiramycine : chez l' adulte 2 g/jours pendant 5 jours, chez l' enfant 50 mg/kg pendant 5 jours.

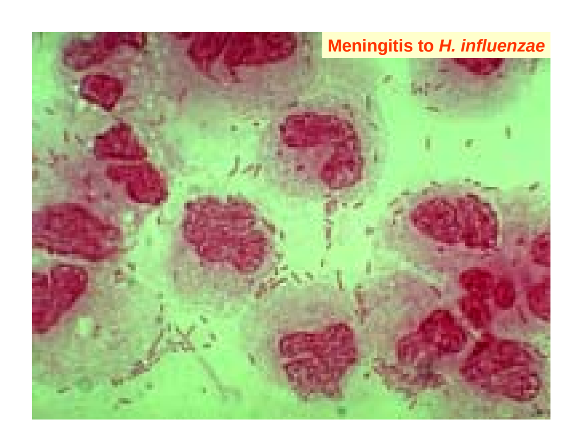
Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae est un bacille à Gram négatif, fragile, croissant sur milieux enrichis. Il possède une capsule polysaccharidique avec 6 sérotypes (a, b, c d, e et f). Le sérotype b est celui qui pose de loin le plus de problèmes de Santé Publique car il est le principal responsable d'infections invasives (méningites, pneumonies, septicémies, arthrites..). Les autres sont responsables surtout d'otites.
Il existe un vaccin contre les souches de sérotype b. L'antigène vaccinal est le polysaccharide capsulaire b, qui est peu immunogène. Son immunogénicité est renforcée par conjugaison avec une protéine immunogène, telle que l'anatoxine tétanique ou l'anatoxine diphtérique. Depuis l'introduction du vaccin chez les nourrissons, il y a eu une quasi-disparition des infections à *H. influenzae* de sérogroupe b.
H influenzae est une bactérie strictement humaine, transmise par voie aérienne. Le portage rhino-pharyngée est répandu chez le jeune enfant (jusqu'à 50% de portage avant 2 ans) et, avant vacci-nation, les infections à *H influenzae* sérotype b (Hib) étaient très fréquentes avant l'âge de 5-6 ans. Les bactéries colonisant le rhino-pharynx peuvent induire des infections ORL très fréquentes et parfois pulmonaires (otites,

sinusites, épiglottites, pneumonies). Les bactéries peuvent disséminer par voie sanguine chez quelques enfants donnant une septicémie isolée (rare) souvent infectant les méninges (méningites) ou éventuellement les articulations (arthrites).

Diagnostic des infections à *H influenzae*.

Le diagnostic des infections à *H influenzae* repose sur l'isolement du germe en culture sur gélose au sang. La recherche d'antigènes solubles dans le LCR, le sang ou l'urine est possible seulement pour le polyoside capsulaire b. Les bactéries sont souvent résistantes aux aminopénicillines par production de β-lactamases plasmidiques. Il n'existe pas de sérodiagnostic.



Méningite à *H influenzae*

Traitement des infections à *H influenzae*.

L'antibiothérapie est basée sur l'utilisation de céphalosporines résistan-tes aux β-lactamases type céphalo-sporines de 3ème génération (céfatoxime, céftriaxone) pour les infections sévères (méningites, pneumo-nies, épiglottites). Pour les infections ORL(otites, sinusites), on peut utiliser les certaines céphalosporines (céfuroxime, céfixime, cefpodoxime) ou l'association amoxi-cilline + un inhibiteur de β-lactamase (acide clavulanique).

Parmi les alternati-ves , la rifampicine ou une fluoroqui-nolone (uniquement chez l'adulte) ont été utilisés avec succès.

Le traitement préventif est la vaccination pratiquée avant 6 mois: 3 injections à 1 mois, rappel à 18 mois ; entre 6 mois et 1 an : 2 injections à 1 mois, rappel à 18 mois ; de 1 à 5 ans :1 seule injection. Tous les enfants doivent être inclus dans cette vaccination de routine. Pour l'antibioprophylaxie, on utilise la rifampi-cine 10 à 20 mg/kg/j, 5 à 7 jours dans l'entourage (collectivité) d'un enfant ayant une méningite à *H. influenzae* type b.

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae (pneumo-coque) est un coque Gram positif, fragile, nécessitant pour sa croissance des milieux enrichis. Il possède une capsule polysaccharidique définissant plus de 84 sérotypes. Certains sérotypes sont plus virulents.

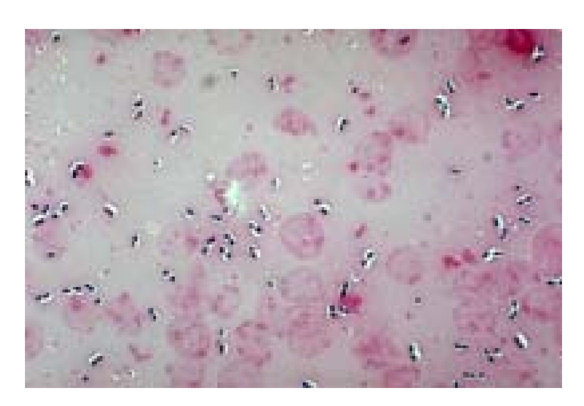
Le pneumocoque est un hôte habituel des voies aériennes supérieures (5 à 10 % de la population adulte). Les sujets à risques sont les patients splénectomisés et drépanocytaires (asplénisme), les sujets aux âges extrêmes de la vie (<2 ans, > 65 ans), les patients avec insuffisance respiratoire, cardiaque, hépatique (cirrhose..), diabète... L' inci-dence annuelle de septicémies à pneumocoque (pneumococcémies) est de 8,5 / 100 000 habitants. Par leur fréquence et leur éventuelle gravité, les infections à pneumocoque sont un réel problème de Santé Publique.

Les pneumocoques colonisent fréquem-ment le rhinopharynx (jusqu'à 50% de portage avant 2 ans) et déclenchent comme *H influenzae* de fréquentes infections des voies aériennes (otites, sinusites, mastoïdites et pulmonaires). Les bactéries peuvent parfois disséminer par voie sanguine et donner des

méningites, des péritonites, des arthrites, des endocardites.

Diagnostic des méningites à pneumocoques.

Le diagnostic des méningites à pneumocoques repose sur l'isolement et l'identification des germes en culture. Une recherche d'antigènes solubles est possible dans le LCR , le sang et les urines. Il n'existe pas de sérodiagnostic. Près de 50% des souches de *S pneumoniae* sont trouvées de CMI intermédiaires (0,1-1mg/L) ou résistantes (>1 mg / L, habituellement 2 mg/ L) à la pénicilline. Cette résistance à la pénicilline s'accompagne souvent d'une résistance à d'autres antibiotiques (érythromycine, tétracyclines…).



Pneumocoques capsulés dans un pus

Traitement des méningites à pneumocoques.

Antibiothérapie
La pénicilline était le traitement de choix et le choix de l'antibiotique est fonction de la CMI à la pénicilline G. Pour les souches de CMI sensibles et intermédiaires (CMI < 0,1 mg/ L, 0,1 –1 mg/L,respectivement), on utilise l'amoxicilline (200 mg/kg/j). Pour les souches de CMI résistantes à la pénicilline (> 1 mg/ L) , on utilise le céfotaxime (200 mg /kg/j) ou ceftriaxone (500 mg/kg/j). Les macrolides sont inconstamment actifs (40 % des souches résistantes). Les aminosides sont inactifs sur les pneumocoques, comme tous les autres streptocoques, mais une synergie est conservée en association avec les β-lactamines. La vancomycine est constamment active. C'est l' antibiotique de choix en cas de résistance complète à toutes les β-lactamines et constamment indiqué en association avec les céphalosporines de 3ème génération lors des méningites. La rifampicine est un antibiotique de choix car encore il n'y a que peu de souches résistantes. Le chloramphénïcol est inconstamment actif.

La vaccination est indiquée chez les sujets âgés (> 65 ans), les malades avec des affections chroniques (cardiovasculaires, respiratoires, diabète, cirrhose...), les drépanocytaires, splénectomisés (dans ce cas, la vaccination doit intervenir15 jours avant la splénectomie).

Listeria monocytogenes

L monocytogenes est un bacille à Gram positif, résistant aux conditions hostiles, croissant sur milieux ordinaires, même à + 4°C. La bactérie est saprophyte, largement présente dans l'environnement (sol, eaux , ensilage...). L'homme est contaminé à partir de son alimentation. La production industrielle des aliments et leur conservation à basse température augmentent le risque de contamination.
L monocytogenes est une bactérie pathogène opportuniste, atteignant surtout les sujets au système immunitaire diminué (femmes enceintes, nouveau-nés,immunodéprimés, personnes âgées). On dénombre environ 225 cas / an en France.

Les bactéries ingérées avec la nourriture contaminée, traversent l'intestin et gagnent le foie, puis disséminent par voie sanguine vers le système nerveux central (SNC) donnant une méningo-encéphalite et le placenta chez la femme enceinte

(infections foeto-placentaires).Les signes cliniques peuvent être limités à une fièvre inexpliquée, et en cas d'atteinte du SNC, des céphalées avec des paralysies des pires crâniennes.

Traitement de la listériose

Le traitement antibiotique est basé sur l'utilisation de la pénicilline G ou des amino-pénicillines (amoxicilline). Les bactéries sont résistantes aux céphalosporines. Les aminosides (gentamicine) avec les pénicillines sont généralement associés aux β-lactamines, du fait de leur action synergique. En cas d 'allergie aux β-lactamines, le cotrimo-xazole peut être employé. Il n'y a pas de vaccins.

Streptococcus agalactiae

S agalactiae (streptocoque B) est un coque à Gram positif en chaînettes, qui croit sur milieux enrichis. Cette bactérie colonise le tube digestif et/ou le tractus urogénital chez 5 à 40 % de la population.
L'infection du nouveau-né survient habituellement au cours de l'accou-chement , par rupture prématurée des membranes, donnant une méningite néonatale précoce. La contamination peut aussi survenir après l'accou-chement, donnant une méningite tardive. Chez l'adulte, des infections peuvent survenir surtout chez des sujets prédisposés (diabète, grossesse, can-cer...). Il peut s 'agir d'infections urinaires, de pneumonies, d'endo-cardites, de septicémies.
Le traitement est basé sur la pénicilline G ou l'amoxicilline, associé aux amino-sides. L'alternative à la pénicilline est la vancomycine ou le chloramphénicol.

Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif, appartenant à la famille des entérobactéries, capable de croître sur milieux ordinaires. Cette bactérie est germe présente dans la flore du tube digestif. Les souches responsables de méningites néo-natales appartiennent au groupe capsulaire K1.
Le traitement de ces méningites néo-natales est basé sur l'association d'une β-lactamines comme l' amoxicilline (mais de nombreuses souches résistantes sont retrouvées) ou plutôt une céphalo-sporines de 3ème génération (céfota-xime, ceftriaxone) associé à un amino-side.

Les méningites dans un contexte neurochirurgical

Les méningites dans un contexte neurochirurgical sont dues à des souches d'entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*…), de *Pseudomonas aeruginosa* ou espèces apparentées, de *Staphylococcus aureus* ou *Staphylo-coccus epidermidis*. Le traitement anti-biotique sera adapté en fonction des données de l'antibiogramme

Le traitement probabiliste des méningites bactériennes

Adulte et nourrisson	Méningocoque pneumocoque hémophile	Céfotaxime (200 mg/kg/j) + vancomycine ou rifampicine Si suspicion de *Listeria*, ajouter 200 mg/kg/j d'amoxicilline jusqu'au résultat de la culture
Nouveau-né	streptocoque B entérobactéries *Listeria*	Céfotaxime + amoxicilline + aminoside

Les bactéries des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales

Définition

Une infection est dite nosocomiale lorsqu'elle est présumée avoir été acquise à l'hôpital, sans préjuger son origine exogène ou endogène, iatrogène ou non. Les infections nosocomiales sont causées essentiellement par des bactéries , mais aussi par des virus et des champignons.
En France, on estime qu'il y a 530 000 patients hospitalisés à l'AP et que les infections hospitalières atteignent 3 à 5 % des patients hospitalisés, soit 15000 à 25 000 patients par an dans la région de Paris , avec 500 à 2000 décès annuels. La répartition est en chirurgie de 9000 patients, en médecine de 8000, en obstétrique de 3000 , et en gynécologie de 1600 et en pédiatrie de 1600. Le nombre de jours supplémentaires d'hospitalisation serait de 100 000 et 180 000, soit une charge financière de 30 à 42 millions d' €.

Taux d'infections nosocomiales

- Taux global = 5 à 10 % (France, USA)
- 5 à 50% selon le type de service
- Répartition en fonction du site
  - Urinaire : 40%
  - Pulmonaire 20%
  - Site opératoire : 18%
  - Cathéters : 10%
  - Autres : 10%
- Répartition des germes
  - Bacilles à Gram - : 62%
  - Bactéries à Gram + : 30,4%
  - *E. coli* (25%) ; *S. aureus* (14%), *Pseudomonas* sp. (12%)

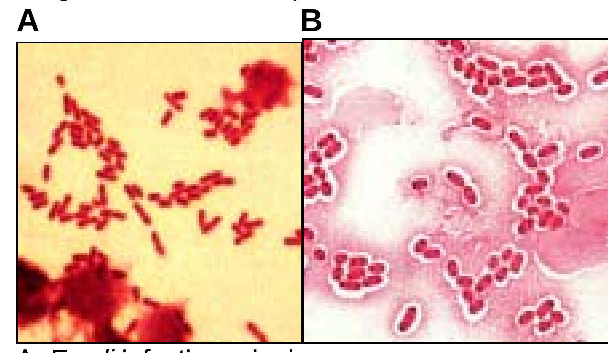
Bactéries les plus souvent responsables des nosocomiales

Les bactéries les plus souvent responsables des nosocomiales sont :
- des enterobactéries : *Escherichia coli* , groupe KES (*Klebsiella . pneumoniae, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens*), *Proteus* spp…
- des *Pseudomonas* : surtout *Pseudomonas aeruginosa*
- des staphylocoques (*Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis)*
- des entérocoques (*Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium)*
- des bacilles gram négatif : *Acinetobacter* spp, *Stenotrophomonas maltophilla*

Ces bactéries entraînent des infections urinaires, pulmonaires , des septicémies, des infections sur catheter et de plaies opératoires…Ces bactéries peuvent devenir multirésistantes.

Le groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia (KES)

Le groupe *Klebsiella, Enterobacter, Serratia* (KES) sont des bacilles à Gram négatif de la famille des entérobactéries, très souvent responsables d'infections nosocomiales.
Le genre *Klebsiella* réunit *K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ozenae, et K. rhinoscleromatis.* Ce sont des bacilles Gram négatif, immobiles, souvent encapsulés, absente dans 25 % des souches de *K. pneumoniae.* En 24 h sur gélose ordinaire à 37°C, les colonies de *K. pneumoniae* sont de 3 à 4 hum, rondes, translucides, muqueuses, bombées. Les bactéries de cette espèce fermentent le glucose et le lactose en produisant du gaz, sont indole +, uréase +, et fermentent l'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer +).



A. *E coli* infection urinaire
B. K. pneumoniae capsulé

Le genre *Enterobacter* réunit *E. aerogenes, E. cloacae, E. agglomerans, E. hafniae* . Ce sont des bacilles Gram négatif, mobiles, non capsulés, donnant parfois des colonies pigmentées en jaune (*E. agglomerans*), indole+,uréase - fermentant d'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer +).
Le genre *Serratia* réunit *S. marcescens* et *S. liquefaciens*. Ce sont des bacilles Gram négatif, mobiles, donnant parfois des colonies pigmentées en rouge caractéristiques. Sur l'antibiogramme, on peut voir un aspect en cocarde autour du disque de colistine.

Les infections nosocomiales du groupe KES

Les bactéries du groupe KES sont responsables de près de 10 à 30 % des infections nosocomiales, survenant sur des patients fragilisés (immunodéprimés, sujets traités par des antibiotiques…). Les infections bronchopulmonaires sont surtout dues à *K. pneumoniae*, représentant 1-5 % des pneumopathies bactériennes et donnant un tableau de pneumopathie bactérienne classique (avec crachats hémoptoïques évocateurs). Les infections urinaires sont tenaces, basses ou hautes, représentant 20% des infections urinaires nosocomiales, surtout dues à *K. pneumoniae*. Les infections localisées sont responsables d'infections secondaires à des gestes chirurgicaux ou des soins infections cutanées, vasculaires (KT), péritonéales ORL, génitales, vésiculaires. *K. pneumoniae* a été incriminée dans certaines épidémies de diarrhées infantiles. Les bactéries du groupe KES donnent des septicémies souvent de mauvais pronostic, du fait du terrain sous-jacent , de la fréquence des chocs endotoxiniques (>20%) et à des métastases infectieuses (5%), et de la résistance fréquente aux antibiotiques.
K. rhinoscleromatis et *K. ozenae* sont des espèces particulières tenues pour responsables respectivement du rhinosclérome, maladie rare et chronique (Afrique du Nord, Afrique centrale, Europe de l'Est) et de la rhinite atrophique.

Physiopathologie et Immunité des infections du groupe KES

Les facteurs de virulence des bactéries du groupe KES sont : (1) la capsule des souches de *Klebsiella* qui confère la résistance à la phagocytose par les polynucléaires et les macrophages ; (2) l'aérobactine , les adhésines ; (3) la sécrétion d'enzymes protéolytiques favorisant la diffusion tissulaire des souches de *Enterobacter* et *Serratia* (bien que peu virulentes pour l'animal de laboratoire par rapport à celles de *Klebsiella*). Ces bactéries Immunité suscitent une immunité de type humorale avec formation d'anticorps opsonisants qui facilitent la phagocytose des souches capsulées (*Klebsiella*) qui ont une grande diversité antigénique. Il n'y a pas d'immunité croisée entre les différents sérogroupes : chez *Klebsiella*, on décrit 11 antigènes O (LPS), plus de 80 antigènes capsulaires K et 15 antigènes flagellaires H.

Epidémiologie des infections nosocomiales du groupe KES

Les bactéries du groupe KES sont très répandues dans la nature, les eaux, les sols, les végétaux, les aliments…Elles appartiennent à la flore commensale de la peau, des muqueuses : l'espèce *Klebsiella* est présente dans la flore fécale chez 30 à 40 % de sujets sains. Ces bactéries sont transmises de façon manuportée ou par aérosols, par du matériel souillé (sondes, catheters), voir par des antiseptiques contaminés.

Traitement des infections nosocomiales du groupe KES

Klebsiella et *Enterobacter* sont naturellement des espèces résistantes à l'ampicilline et à la ticarcilline, sensibles aux aminosides, à la colistine, au cotrimoxazole, aux céphalosporines de 3ème génération, aux quinolones. Les souches du groupe KES sont souvent multirésistantes aux antibiotiques et requiert une antibiothérapie adaptée en fonction de l'antibiogramme et un traitement de la porte d'entrée.

Les entérocoques

Les entérocoques comprennent 2 espèces principales, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, appartenant au groupe D de la classification de Lancefield (selon l'antigénicité du polyoside pariétal). Ce sont des coques Gram positif en diplocoques ou en courtes chaînettes. Après 24 h à 37°C sur gélose au sang, ces bactéries donnent des colonies de 1-2 mm, opaques, non hémolytiques ou entourées d'une zone d'hémolyse de type α ou β. Les bactéries sont catalase négative, fermentent en présence de NaCl.

Les infections nosocomiales à entérocoques

Les entérocoques sont responsables d' infections cutanéo-muqueuses, telles que des surinfections de plaies chirurgicales, d'ulcères variqueux ou de décubitus, de brûlures, de gangrènes ..., d'infections respiratoires (médiastinites…), d'infections digestives (péritonites, cholécystites, appendicites…), d'infections urinaires sur sondes vésicales ou chez des patients porteurs de lithiases, et de cystites chez la jeune femme. Ces infections peuvent donner des septicémie avec méningites, endocardites ou encore péricardites.

Epidémiologie des infections nosocomiales à entérocoques

Les entérocoques sont des bactéries commensales de la flore buccale, digestive et urétrale. Ils sont retrouvés dans la flore fécale chez 25 % des sujets sains. Leur mode de transmission est surtout manuporté comme les autres infections nosocomiales.

Traitement des infections nosocomiales à entérocoques

La sensibilité des entérocoques est inférieure à la pénicilline G (CMI < 2 à 4 mg/L). Le traitement de choix est l' amoxicilline associée à un aminoside Il existe une résistance naturelle à la clindamycine, aux céphalosporines et aux quinolones . On peut rencontrer des résistances acquises multiples: β-lactamines, aminosides, macrolides, glycopeptides.



Entérocoques

Epidémiologie et sensibilité aux antibiotiques des entérocoques

- Épidémiologie
  - Commensaux de la flore buccale , digestive, urétrale.
  - Retrouvés dans la flore fécale chez 25 % des sujets sains
  - Transmission : celles des infections nosocomiales.
- Sensibilité aux antibiotiques
  - Sensibilité inférieure à la pénicilline G (CMI 2 à 4 mg/l)
  - Traitement de choix : Ampicilline plus un aminoside
  - Résistance naturelle : clindamycine, céphalosporines, quinolones
  - Résistance acquise multiple : ß-lactamines, aminosides, macrolides, glycopeptides.

Les staphylocoques

Les staphylocoques réunissent *Staphylococcus aureus* et de nombreu-ses autres espèces dites à coagulase négative (*Staphylococcus epidermidis…*). Ce sont des coques Gram positif, sphériques de 0,8 à 1 μ, en diplocoques ou en petits amas regroupés (grappe de raisin), immobiles , asporulés, non capsulés .
Ce sont des bactéries aéro-anaérobie, à métabolisme respiratoire et fermentaire, catalase positive cultivant rapidement sur milieu usuel en 24 h à 37°C, ou hypersalé. Les colonies de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré ou citrin et sont hémolytiques sur gélose au sang. *S. aureus* produit une DNAse et une coagulase et possède une protéine de paroi spécifique la protéine A. Les staphylocoques à coagulase négative sont différenciés en fonction de leurs caractères métaboliques.
Les infections nosocomiales à staphylocoques sont très fréquentes. Il s'agit d'infections cutanéo-muqueuses à *S. aureus* et à staphylocoques à coagulase négative (infections sur cathéter, infections digestives, pulmonaires..) et de septicémies.

Epidémiologie des infections nosocomiales à staphylocoques méticilline-résistant (SMR)

- France
  - 40% des souches de staphylocoques
  - presque toujours nosocomiaux
  - rarement communautaire
- Danemark
  - 1 à 2% des souches de staphylocoques
- Services hospitaliers les plus souvent concernés:
  - Chirurgie : cardio-vasculaire, ostéo-articulaire
  - Soins intensifs et réanimation
  - Oncologie
  - Service de brûlés
  - Pédiatrie

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif, mobile. Il donne en 24 h sur gélose ordinaire à 37°C des colonies de 3 à 4 mm, plates, translucides, irisées, vertes à l'odeur de la pomme verte (par production de 2 pigments, la pyoverdine et la pyocyanine). C'est une espèce aérobie stricte, oxydase +, capable de croître à 42°C et naturellement très résistante aux antibiotiques.

Les infections nosocomiales à *P aeruginosa*

P.aeruginosa est un pathogène opportuniste responsable d'infections survenant chez des patients fragilisés. On relève des infections broncho-pulmonaires par colonisation des muqueuses bronchiques. C'est le 1er germe responsable de pneumopathie nosocomiale (environ 20%) avec un important taux de mortalité. Les germes colonisent inéluctablement l'arbre bronchique au cours de la mucoviscidose : en fonction de l'age, < 20% chez les enfants de moins de 1 an, > 80% chez les plus patients de 20 ans. *P aeruginosa* participe directement à la progression et

à l'aggravation des lésions pulmonaires au cours de cette maladie.


P.aeruginosa

P aeruginosa est par la fréquence le 3ème germe responsable d'infection urinaire nosocomiale. ces infections sont souvent récidivantes et chroniques, survenant sur sonde, lithiase ou en phase post-chirurgicale. *P aeruginosa* est aussi responsable d'infections cutanéo-muqueuses localisées : l'*ecthyma gangrenosoma*, nécroses cutanées, cellulites, fasciites nécrosantes, bulles, surinfections d'ulcères variqueux, surinfection de plaies chirurgicales, surinfection de brûlures ; infections oculaires (conjonctivites, kératites, endophtalmies) ;infections ORL (otites chroniques externes malignes, mastoïdites, sinusites...). Ces infections peuvent être à l'origine de septicémies redoutables (méningites, abcès du cerveau…).

Epidémiologie des infections nosocomiales à *P aeruginosa*

P.aeruginosa est une bactérie saprophyte, retrouvée dans l'eau, le sol, les plantes, sur la peau et les muqueuses de l' homme et des animaux. C'est une bactérie sans exigence nutritive, résistante, pouvant croître à des températures élevées (42°C). et ayant prédilection pour les environnements humides (éviers, vases de fleurs, siphons, matériels d'assistance respiratoire, réservoirs d'eau, piscines, solutions désinfectant les lentilles de contact…). La colonisation de la peau chez l'homme intéresse surtout humaine les aisselles, le périnée et les oreilles.

Traitement des infections nosocomiales à *P aeruginosa*

P aeruginosa possède une résistance naturelle aux β-lactamines (pénicilline G, amoxicilline…), aux céphalosporines de 1ère et 2ème génération, mais est sensible aux céphalosporines de 3ème génération (type ceftazidime ou Fortum®) et à l'imipénème (Tiénam®). Sa sensibilité est variable aux aminosides, le plus actif étant l'amikacine (Amiklin®) et aux quinolones, le plus actif étant la ciprofloxacine (Ciflox®). *P aeruginosa* est toujours sensible à la colistine.

Les bactéries multi-résistantes des infections nosocomiales.

Certaines espèces sont naturellement multirésistante (*Xanthomonas maltophilia*). Cependant, on définit les bactéries multi-résistantes comme des souches d'une espèce bactérienne trouvées résistantes au moins à deux classes d'antibiotiques auxquelles les souches de la même espèce sont habituellement sensibles. Les conséquences de ces infections à bactéries multi-résistantes sont multiples : augmentation de la gravité de la maladie du fait de l'inefficacité des antibiotiques, augmentation des durées d'hospita-lisation et de la mortalité , augmentation des coûts d'hospitalisation.

Epidémiologie des bactéries multirésistantes

En France, il existe un très haut taux d'incidence des bactéries multirésistantes. Par exemple, les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (*S aureus* methi-R ou SARM) sont passées

de 20% des souches hospitalières en 1980 à 45 % en 1996, avec une diffusion à des services jusqu'alors peu touchés (chirurgie cardiaque, orthopédique, médecine interne…). Les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline sont souvent retrouvées dans le narines et la peau (aisselles et périnée) et le tractus respiratoire. Ces bactéries sont transmises par les mains du personnel, les objets souillés (stéthoscopes…) et disséminées d'un service à l'autre, d'un hôpital à l'autre d'un malade à l'autre dans le même service.

Facteurs favorisant les infections à bactéries multi-résistantes.

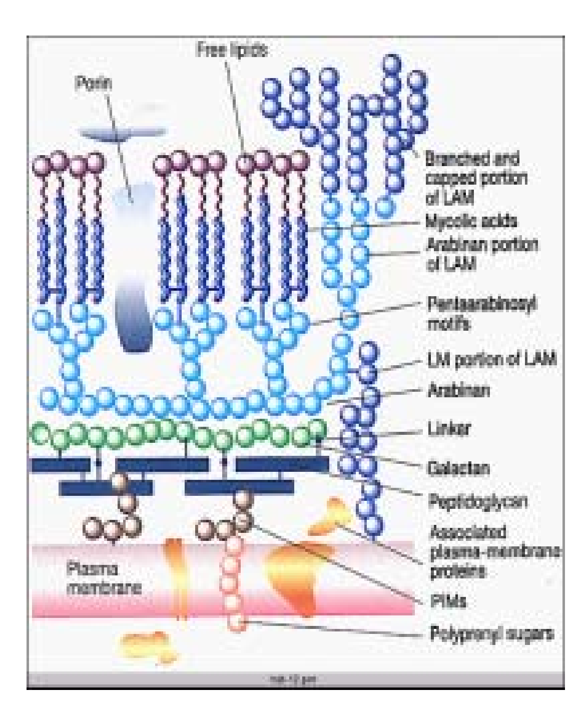
Les facteurs favorisant les infections à bactéries multi-résistantes sont liés au terrain (patients fragilisés, immunodéprimés…), à les actes invasifs (cathéters, intubation, sondage…), à la durée d'hospitalisation prolongée, à l'hospitalisation dans des unités de soins intensifs , au non-respect des règles d'hygiène par les soignants, au partage des chambres, et à l'antibiothérapie prolongée à large spectre.

Dans les services, la stratégie pour interrompre la transmission des bactéries multi-résistantes est basée sur l'isolement des malades, l'étiquetage, le respect des règles d'hygiène en particulier le lavage des mains, le signalement du malade infecté lors de son transfert dans d'autres services hospitaliers , et la notification au service et à la surveillante hygiéniste

Les mycobactéries

Les mycobactéries

Les mycobactéries sont des bactéries à paroi riche de lipides (acides mycoliques) et de glycolipides (arabinogalactame, lipo-arabinomannane), apparentées aux bactéries à Gram positif. Ce sont des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR), propriétés tinctoriales mise en évidence par la coloration de Ziehl-Neelsen. Les mycobactéries sont capables de croître dans les macrophages et résistent aux antibiotiques anti-bactériens usuels.



Paroi des mycobactéries riches de lipides (acides mycoliques) et de glycolipides (arabinogalactame, lipo-arabinomannane).

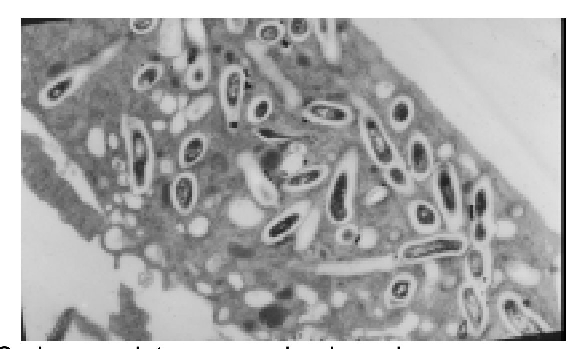
Ce sont des bactéries aérobies strictes qui requiert de l'oxygène pour leur croissance rapide ou lente. Ces bactéries sont responsables de maladies chroniques (tuberculose, lèpre) et d'infections opportunistes au cours du SIDA.

Il existe plus de 50 d'espèces de mycobactéries saprophytes. Certaines sont pathogènes : (1) mycobactéries de la tuberculose : *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* ; (2) mycobactérie de la lèpre : *Mycobacterium leprae* ; (3) mycobactéries atypiques: les mycobactéries opportunistes (SIDA) : *Mycobacterium avium, Mycobacterium kansasii…*

Propriétés	Mycobactéries tuberculose	Mycobactéries de la lèpre	Mycobactéries atypiques
Réservoir	Strictement humain	Strictement humain	Saprophytes Homme animaux
Temps de génération	24 heures	13 jours	Rapide ou lente
Pathogénicité	Tuberculose	Lèpre	Opportunistes

Mycobactéries de la tuberculose

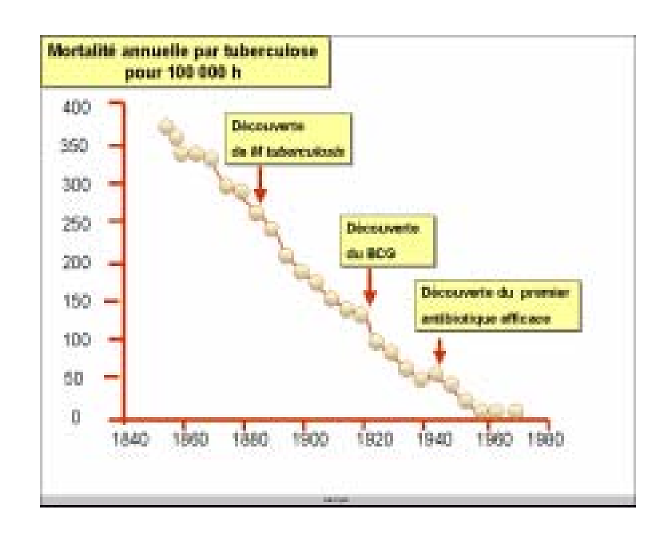
La tuberculose est due à plusieurs espèces de mycobactéries : *M tuberculosis* , *M. bovis, M. africanum*. Ce sont des bactéries strictement humaine transmises par voie aérienne, hautement virulente (l'inoculum infectant par aérosols est de l'ordre de 1-3 bactéries), à croissance lente (20 h temps de génération), capables de survivre et de croître dans les macrophages(bactéries à croissance intracellulaire facultative). En pratique, *M tuberculosis* (ou bacille de Koch, BK) est le pathogène de loin le plus souvent isolé au cours de cette maladie.



Croissance intra-macrophagique des mycobactéries.

Méningite tuberculeuse	Pays développés	Pays non développés
Mortalité	10 %	50 %
Séquelles	25-35 %	Très élevées

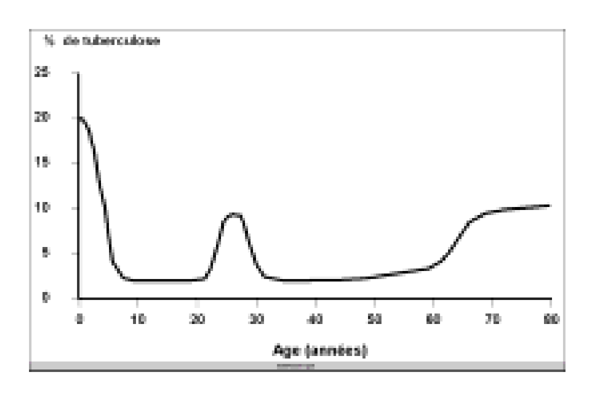
L'impact de la tuberculose en Santé Publique est considérable, surtout dans le tiers-Monde. D'après l' OMS (1990), l' incidence de la tuberculose était de : 3 344 506 cas déclarés / an , avec des taux d'incidence de $25/10^5$h en Europe , $30/10^5$ h en Amérique du Nord, de $70/10^5$ h en Afrique, de $70/10^5$ h dans les pays de l'Est de la Méditerranée, $120/10^5$ h en Asie, et de $60/10^5$ h dans le Pacifique Ouest . En France, l'incidence est de $17/10^5$h, avec 52 cas de méningite tuberculeuse en 1992 (incidence 9 méningites $/10^3$ primo-infections tuberculeuses). On a récemment vu une augmentation de la tuberculose dans le monde, atteignant près de 24 % dans le Tiers-Monde. En Europe, on a observé un ralentissement de la décroissance de l'incidence de la maladie. Enfin, on a aussi observé l'émergence de souches résistantes aux antituberculeux (INH, rifampicine, éthambutol...).



Chute de la tuberculose avec l'amélioration de l'hygiène et de l'alimentation.

La tuberculose

La tuberculose est avant tout une infection pulmonaire, localisation de 85 % des cas. L'évolution de la maladie varie en fonction de l'âge des patients.



Pourcentage de tuberculose en fonction de l'âge d'exposition

Les jeunes enfants (<3 ans) font des miliaires tuberculeuses généralisées avec méningites. Les enfants de 3-15 ans font des primo-infections asymptomatiques avec chancre d'inoculation, adénopathie médiastinale : c'est le ''complexe primaire d'inoculation''. Les jeunes adultes 15-25 ans ont une propension pour présenter une tuberculose cavitaire des sommets. Les vieillards font des réactivations de tuberculose ancienne ou des surin-fections avec miliaires, cavernes, pneumonies progressives graves. Les formes extra-pulmonaire représentent 15 % des tuberculoses. Il s'agit de méningites, de formes ostéo-articulaires (mal de Pott), urogénitales, séreuses (péricardites pleurésies, péritonites), ou encore ganglionnaires.

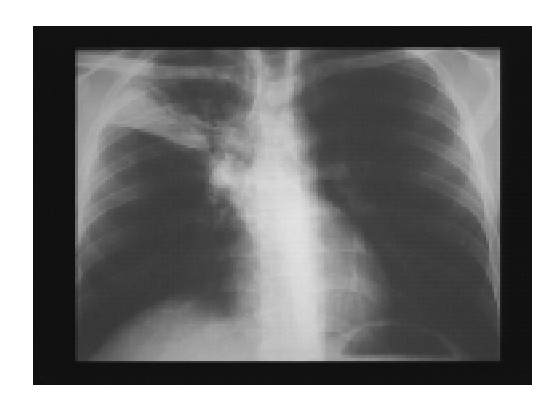
Physiopathologie de la tuberculose

La tuberculose est une maladie chronique liée à l'interaction complexe entre les bactéries et le système immunitaire. La réaction immunitaire T (CD4-dépendante) de l'hôte (terrain génétique) est déterminante pour l'expression clinique de la maladie. La contamination se fait par aérosols (*droplets nuclei* avec 1-3 bactéries > 5 µ) transmis par la toux, la parole, les éternuements, à partir des patients, surtout ceux hautement contagieux présentant des cavernes tuberculeuses. L'inoculum infectant est faible < 100 bactéries et les contacts sont souvent répétés. La transmission digestive qui requiert un inoculum massif $>10^8$ bactéries se faisait par le lait

contaminé (*M. bovis*) et est devenue rare depuis la pasteurisation systématique du lait. Très rarement, la tuberculose peut être transqmise par voie sexuelle, transplacentaire ou cutanée.

Phase pré-immune de l'infection (< 6-8 semaines)

Chancre d'inoculation pulmonair
Après contamination par aérosols, la lésion initiale est le chancre d'inoculation pulmonaire. Les cibles des bactéries sont les macrophages alvéolaires de zones les mieux ventilées (segments inférieurs des lobes moyen et inférieur , segment antérieur des lobes supérieurs , lingula). Les bactéries pénètrent les macrophages par les CR3-CR1 et les récepteurs de la fibronectine, et se multiplient dans ces cellules en inhibant les fusions phagolysosomes, et en résistant aux enzymes lysosomiaux (acides mycoliques). Cette résistance est due à la paroi des mycobactéries riches de lipides (acides mycoliques) et de glycolipides (arabinogalactame, lipo-arabinomannane).
Cette multiplication intra-macrophagique entraîne une alvéolite acellulaire, marquant le chancre d'inoculation, qui est habituellement unique (25%>1), contenant des macrophages et quelques polynucléaires avec rares BK, une exsudation de fibrine avec vasodilatation capillaire. Cette alvéolite évolue avec l'apparition en 3-4 semaines de cellules géantes et épithélïodes, constituant avec un afflux de lymphocytes un granulome inflammatoire à la 8ème semaine.
A partir du chancre d'inoculation, les bactéries disséminent d'une part vers les ganglions lymphatiques du hile et du médiastin, formant le ''complexe primaire d'inoculation'' , et d'autre part par voie sanguine vers tous les tissus (ganglions lymphatiques, moelle osseuse, rein, cerveau) et les régions apico-dorsales des poumons. La phase pré-immune est caractérisée par l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne et la dissémination sans granulome aux tissus. C'est la période de risque majeur de méningite tuberculeuse.

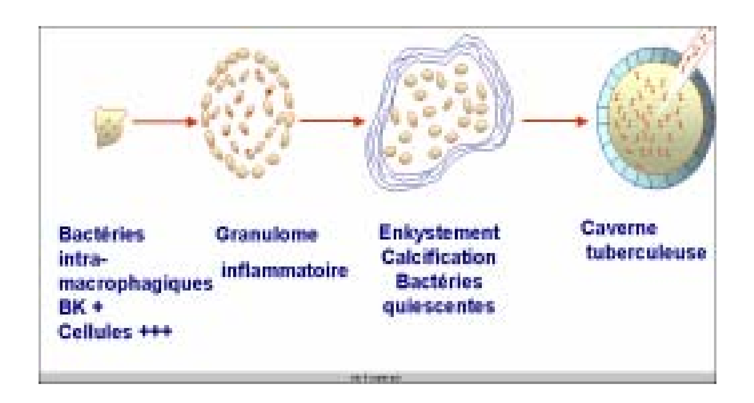


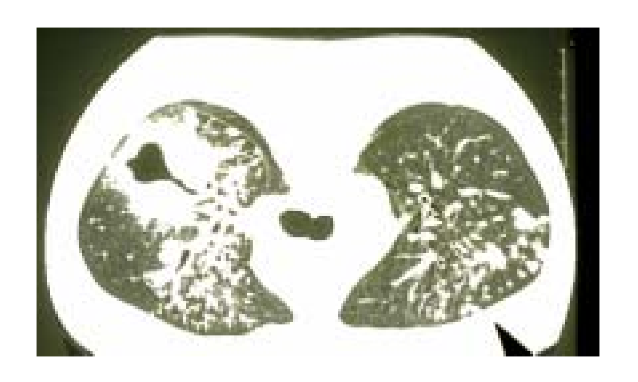
Complexe primaire d'inoculation

Phase immune de l'infection (6-14 semaines)

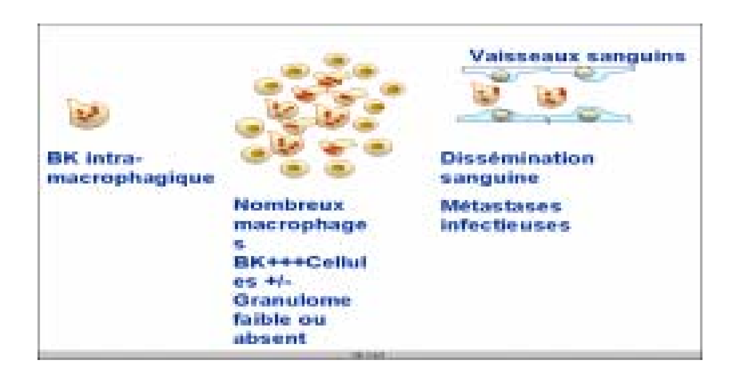
La phase immune de l'infection correspond à l' induction de l'immunité cellulaire T avec formation de granulomes inflammatoires. Les événements cellulaires de l'immunité antituberculeuse sont d'abord :(1) la présentation des antigènes bactériens immuno-dominants (> 20 protéines majeures) aux lymphocytes CD4 par les macrophages chargés de bactéries intracellulaires ; ces macrophages produisent de Il-1 qui stimule la prolifération des cellules CD4 productrices d'INF-γ ; (2) l'activation des macrophages bactéricides et le recrutement des monocytes activés par les cytokines. Ces événements contribuent à la formation des granulomes tuberculeux constitués de macrophages activés producteurs d'Il-1 et TNF (cellules épithélioïdes) ou fusionnés (cellules géantes de Langhans) au centre du foyer inflammatoire et de lymphocytes CD4 $\alpha\beta$ et CD3 $\gamma\delta$ cytotoxiques recrutés, entraînant la destruction des macrophages et une réaction fibroblastique périphérique entraînant un enkystement.
L'évolution du granulome se fait vers la nécrose caséeuse, qui est une nécrose tissulaire et bactérienne formant un milieu semi-solide très hostile (pas d'oxygène, pH acide, pas de nutriments) avec de rares bactéries extracellulaires

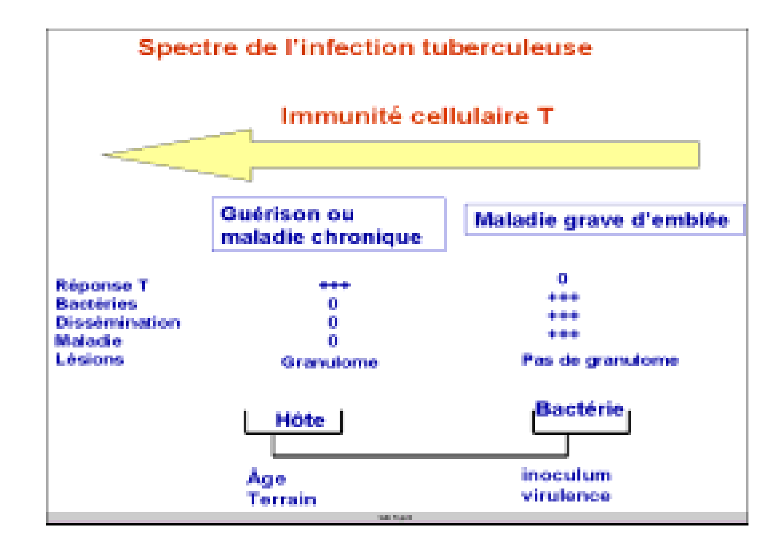
quiescentes. Cette nécrose, considérée comme très efficace pour contrôler la multiplication bactérienne ne survient que lorsque la croissance n'est pas entièrement contrôlée.



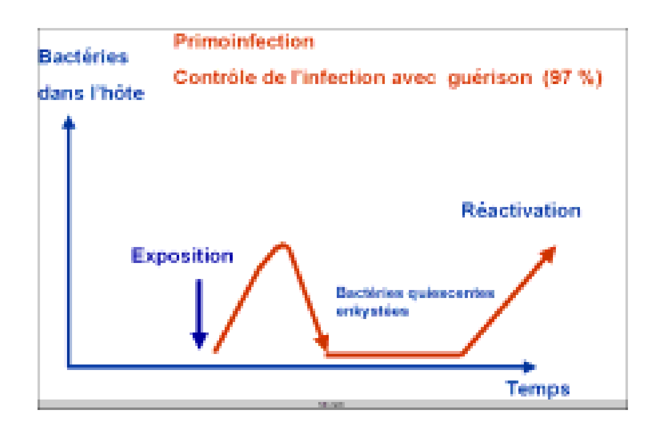


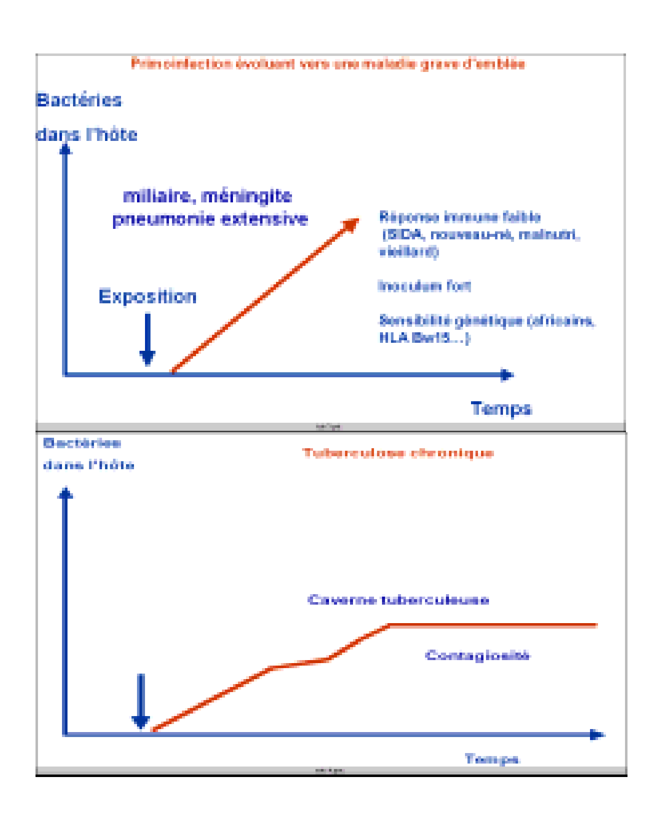
Caverne tuberculeuse avec fistulisation aux grosses bronches (Scanner pulmonaire).





Les conséquences de la réponse immune sont le contrôle de la bactériémie qui disparaît , la destruction des bactéries tissulaires dans les granulomes et l' apparition de la résistance acquise contre la tuberculose (hypersensibilité retardée HSR et résistance à la surinfection). Cette réponse immune est remarquablement efficace puisque la guérison après contact avec *M. tuberculosis* survient dans près de 97 % des cas (avec enkystement des bactéries qui peuvent rester quiescentes des années. La maladie-tuberculose ne se développe que dans 3 % des cas : soit une dissémination d'emblée avec tuberculose aiguë et peu de granulomes, soit constitution d'une caverne tuberculeuse avec des granulomes évoluant vers la nécrose caséeuse et le drainage du caséum vers l'extérieur.





La résistance acquise anti-tuberculeuse

La résistance acquise anti-tuberculeuse est de longue durée, entretenue par les réinfections et par l'exposition aux bactéries de l'environnement. Les réinfections exogènes se voient après un inoculum massif, ou chez des sujets fragilisés (malnutrition, SIDA, vieillard…). Les réactivations endogènes surviennent au cours de déficits immunitaires ou après traitement par des corticoïdes.

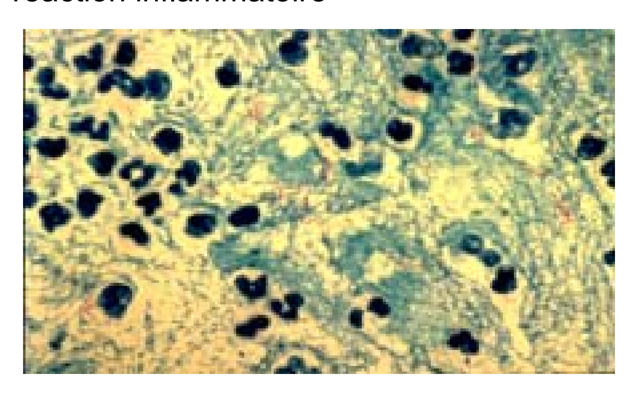
Diagnostic de la tuberculose

Prélèvements

Dans la tuberculose pulmonaire, on pratique des prélèvements des sécrétions bronchiques (crachats, tubage gastrique, aspiration bronchique). Dans la tuberculose extra-(pulmonaire, les prélèvements proviennent de foyers ouverts (urines), ou de foyers fermés (pus de ponctions et biopsies de plèvre, méninges, ganglions...).

Examen microscopique des prélèvements

L'examen microscopique direct des prélèvements cherche à visualiser les BAAR par coloration de Ziehl-Neelsen ou fluorescence: il s'agit de bacilles 2-4 μ intra et extracellulaires associés à une réaction inflammatoire



BAAR par colorartion de Ziehl Neelsen des crachats

Isolement et identification en culture

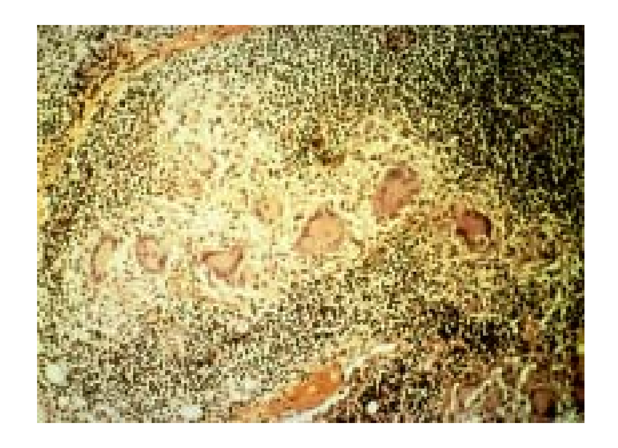
L' isolement et identification de *M tuberculosis* se fait par culture sur milieux de Löwenstein-Jensen et Coletsos. Les colonies typiques en chou-fleur apparaissent en 3 semaines à 2 mois d'incubation à 37°C. L'espèce est identifiée par des tests biochimiques (niacine-test, catalase) et des sondes moléculaires spécifiques d'espèce. L' antibiogramme se fait sur milieu de Löwenstein-Jensen en testant l' INH, l'éthambutol, la rifampicine, la strepto-mycine et la pyrazinamide.



Colonies en chou-fleur de *M tuberculosis* sur milieu de Löwenstein.

Pour les biopsies, l'examen anatomo-pathologique est de grande valeur,

montrant les granulomes giganto-cellulaires typiques avec le caséum.



Granlulome typique à cellules géantes

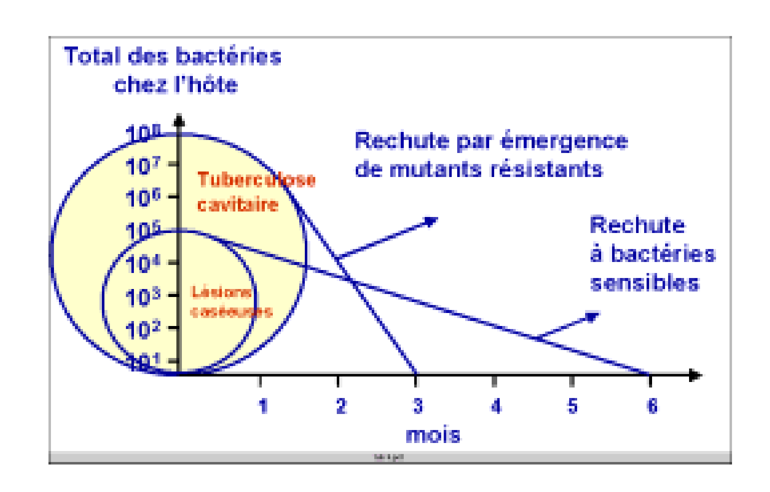
Parmi les autres méthodes parfois utilisées, on peut aussi avoir recours à la PCR pour accélérer le diagnostic de *M tuberculosis* et la culture accélérée sur milieu liquide 7H10 et détection par fluorométrie en 10-14 jours (intérêt pour l'antibiogramme). L'inoculation au cobaye ne se fait plus en routine.

Hypersensibilité retardée (HSR)

Le diagnostic indirect est basé sur l'intradermo-réaction(IDR) à la tuberculine (extraits bactériens protéiques) montrant l'hypersensibilité aux antigènes de BK. Il existe des tests sérologiques (ELISA) peu contributifs en pratique.

Traitement de la tuberculose

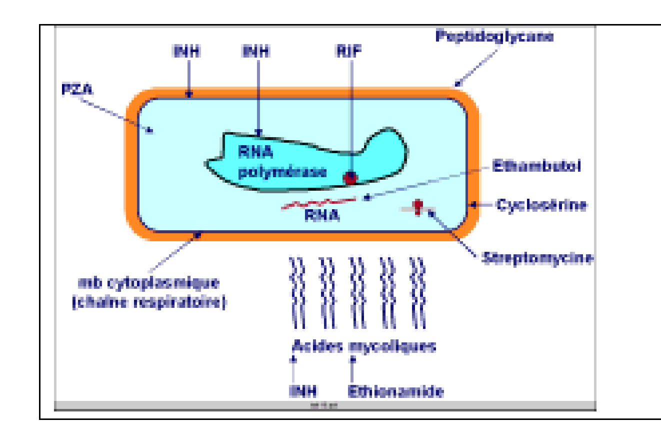
M tuberculosis est une bactérie aérobie stricte, à croissance lente (20 h ou plus) présentant une fréquence élevée des mutations : INH (isoniaside) $5/10^6$, rifampicine $1/10^7$, pyrazinamide $1/10^7$, éthambutol $1/10^5$, streptomycine $4/10^5$.
Selon ces propriétés, on peut définir trois populations bactériennes tenant compte du taux de bactéries dans les lésions histologiques:
L' objectif du traitement est d' empêcher la sélection de mutants résistants aux antibiotiques et d'éliminer les bactéries persistantes pour prévoir les rechutes. En France, le taux de résistance primaire à INH est de 3 %, à la streptomycine de 4 %, à la rifampicine de 0,1 %. Les antibiotiques anti-tuberculeux ont des activités variables selon la localisation et l'état physiologique des bactéries. Les associations d'antibiotiques anti-tuberculeux et la durée du traitement dans la tuberculose pulmonaire sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

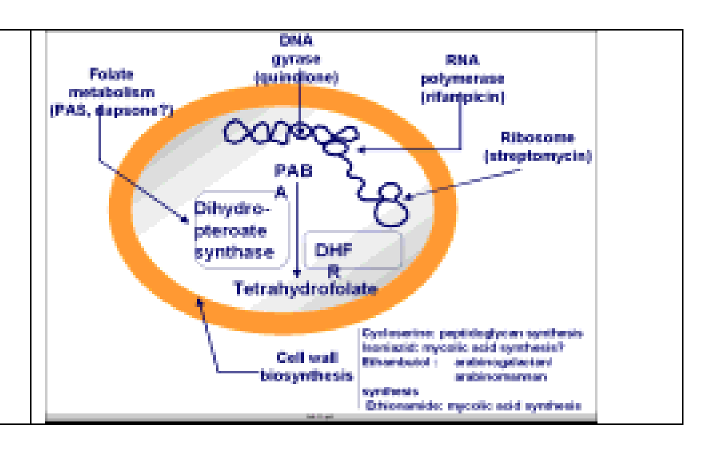


Antibiotiques	**Activité sur les bacilles à**		
	Multiplication active	**Multiplication ralentie**	
		pH acide	pH neutre
	Caverne	Macrophages	Caséum
INH	++	+	0
Rifampicine	++	+	+
Pyrazinamide	0	++	0
Ethambutol	±	±	0
Streptomycine	+++	0	0

	Granulome	**Caséum**	**Caverne**
Bactéries	10^2 - 10^5	10 < 10^5	10^9 10^{11}
Aérobiose	+	-	+++
Multiplication	+	-	+++
Acidité	+	neutre ± acide	neutre

Associations			**Durée**	**Echecs**
INH	SM	PAS	18-24 mois	10 %
INH	SM	RIF	9 mois	~ 0 %
INH	RIF	PYR	6 mois	~ 0 %





Mycobacterium leprae

M leprae est l'agent de la lèpre (bacille de Hansen). C'est un BAAR responsable d'une infection chronique cutanée et nerveuse (superficielle). Il n'existe qu'un seul réservoir, l'homme. Cette mycobactérie à croissance intracellulaire stricte est non cultivable.



M leprae au microscope électronique

Lèpre

C'est une maladie d'un grand polymorphisme. D'après la classification de l'OMS (clinique, histologie, immunologie), on distingue : (1) des formes stables, la lèpre tuberculoïde et la lèpre lépromateuse ; (2) des formes frontières instables (*borderline*). Parmi les individus en contact avec le bacille, seul un faible nombre développera la maladie.



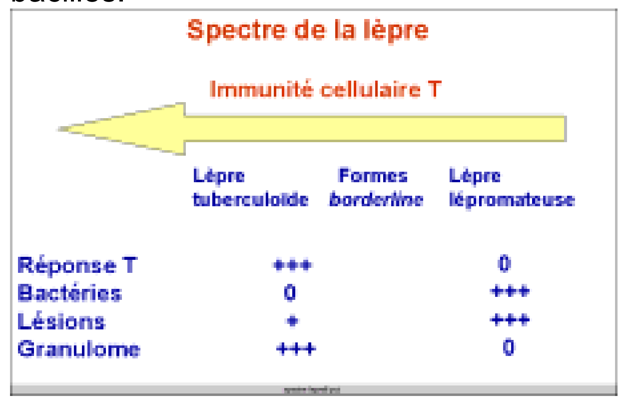
lèpre tuberculoïde et lèpre lépromateuse

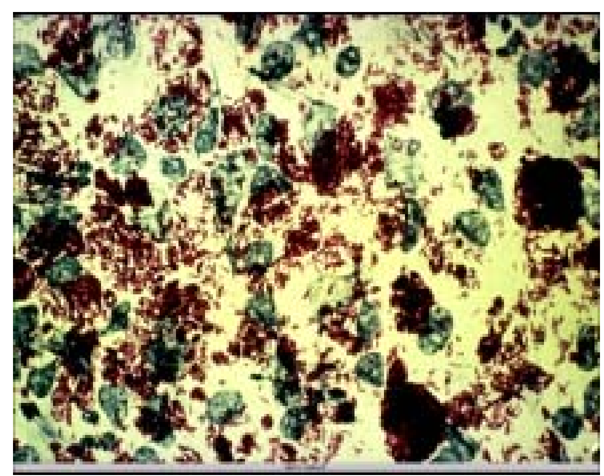
La lèpre tuberculoïde (sujets "résistants") est caractérisée par des macules érythémateuses, hypopigmentées, évoluant vers des plaques étendues (léprides). Ces lésions cutanées s 'accompagnent de signes neurologiques : perte de la sensibilité thermique, tactile, sensibilité douloureuse de la peau, hypertrophie des troncs nerveux, entraînant des troubles trophiques des phanères et des os (déformations, mutilations par ostéolyse).

La lèpre lépromateuse (sujets "sensibles") est une forme grave, généralisée avec infiltration diffuse des tissus par les bacilles., associée à de nombreuses lésions cutanées disséminées type macules et nodules fermes et indolores (lépromes). On voit un épaississement important du lobe des oreilles, faciès léonin, atteinte des muqueuses aéro-digestives supérieures et un coryza chronique avec sécrétions purulentes et épistaxis, destruction du cartilage nasal (perforation de la cloison nasale...). Les formes frontières évoluent vers l'une ou l'autre forme.

Physiopathologie de la lèpre et immunité

La contamination se fait par voie transcutanée (contact peau ou sécrétions nasales), avec un rôle favorisant pour les excoriations. Les bactéries ont un tropisme cutané et nerveux des parties exposées au froid (multiplication à 30°C, temps de génération : 13 jours). Les mycobactéries sont phagocytées par les macrophages tissulaires et les cellules de Schwann et se multiplient dans toutes ces cellules. Ceci induit une réaction cellulaire T très forte dans la forme tuberculoïde avec des granulomes cellulaires et peu de bactéries. Dans la forme lépromateuse, la réaction cellulaire T est faible et les lésions cutanées sont sans réaction cellulaire et riches de bacilles.




lèpre lépromateuse avec de nombreuses bactéries et peu de cellules.

Epidémiologie de la lèpre

On compte environ 11 millions en 1975 (en Asie, Afrique, Amérique du Sud, Indes). Cette maladie est contagieuse par les malades lépromateux (multibacillaires) en particulier par les écoulements de mucus nasal (pouvant contenir jusqu'à 10^8 bactéries / mL). La transmission se ferait par contact direct (cutanée et muqueuse). L'incubation est de 3 - 5 ans. Le tatou serait la seule espèce animale naturellement contaminée.



Diagnostic bactériologique de la lèpre

L' examen microscopique direct est la clé du diagnostic en permettant de visualiser les BAAR non cultivables dans les biopsies cutanées et les frottis nasaux L'intradermoréaction à la lépromine (réaction de Mitsuda) peut aider au diagnostic sur le terrain.


amas de bacilles (globi) dans un écoulement nasal de lépreux.

Traitement de la lèpre

On utilise les sulfones (dapsone), la clofazimine, et la rifampicine, antibiotique majeur contre cette maladie. Habituellement, 3 antibiotiques sont administrés par voie orale pendant 2 ans. On a vu apparaître des bactéries résistantes sous antibiothérapie. La maladie n'est plus contagieuse après 3-4 semaines de traitement.

Mycobactéries opportunistes

Certaines mycobactéries à croissance rapide ou lente, souvent très résistantes aux antibiotiques, sont responsables d'infections opportunistes graves chez les sujets fragiles, notamment au cours du SIDA. Il existe de nombreuses espèces de l'environnement : *M. avium-intracellulare* (les plus importantes en pratique), *M. kansasii, M xenopi, M. fortuitum, M. chelonei , M. malmoense , M. ulcerans M. scrofulaceum*...

Les infections opportunistes

Ce sont des mycobactérioses pulmonaires dans 80-90 % des cas, pouvant ressembler à la tuberculose (*M. avium*

intracellulare, M kansasii, M xenopi). Il peut aussi s'agir de mycobactérioses ganglionnaires (*M. scrofulaceum, M. avium-intracellulare*), de formes cutanées (*M. marinum, M. ulcerans*) et de formes disséminées (SIDA).

Physiopathologie des mycobactérioses opportunistes

Ces mycobactéries sont capables de se multiplier dans les macrophages et déclenchent une immunité cellulaire T . Ces infections sont très bien contrôlées chez les sujets sains, ce qui n'est pas le cas des immunodéprimés.

Diagnostic des mycobactérioses

Les bactéries BAAR sont visualisées dans les prélèvements de crachats et les hémocultures. Selon les espèces, elles croissent sur milieu de Loewenstein-Jensen , rapidement en 24-48 heures ou lentement en 3-4 semaines

Traitement

Ces mycobactéries sont souvent résistantes aux anti-tuberculeux, et seulement sensibles à certains antibiotiques, tels que pour *M. avium* la clarithromycine et à la sparfloxacine.

Vaccins bactériens

Vaccination

Définition

Les vaccins sont des préparations anti-géniques dérivées d'un agent patho-gène spécifique capable d'induire chez un sujet réceptif, une réponse immu-nitaire protectrice vis-à-vis de cet agent. La vaccination est une immunopro-phylaxie active et la protection induite est différée et durable, ceci la distingue de la séroprévention qui consiste en l 'injection d 'anticorps et qui confère une protection passive immé-diate mais transitoire.

Il existe actuellement des vaccins contre nombre de bactéries et de virus mais il n 'y a pas de vaccin contre les parasites.

Vaccins vivants

Le principe vaccinal est constitué d'un agent pathogène de virulence atténuée est infecté. Le but est d'induire au prix d'une infection asymptomatique une protection proche de celle qui succède à l'infection naturelle.

Vaccins particulaires

On distingue deux types de vaccins particulaires :

Les vaccins inactivés : dans ce cas, la totalité des corps bactériens ou des particules virales sont injectés mais ont au préalable été inactivés par la chaleur, formol… Ces vaccins induisent une **réponse humorale et/ou cellulaire** contre certains éléments en général non identifiés de l'agent pathogène.

Les vaccins fractionnés : dans ce cas le vaccin est constitué d 'un ou de plusieurs élément(s) de l 'agent pathogène, polysaccharide capsulaire ou protéines membranaires, qui va (vont) être responsable(s) de la produc-tion d 'anticorps, qui auront une activité bactéricide et/ou neutralisante d'une étape essentielle du pouvoir pathogène (tétanos, diphtérie).

Réponse immunitaire induite par les vaccins

Vaccins vivants
Les vaccins vivants se multiplient et diffusent habituellement dans l'organis-me. Après une dose unique de ces vaccins, une protection immunitaire généralement prolongée est obtenue, ce qui fait que ces vaccins ne nécessitent que peu de rappels.

Vaccins particulaires à l 'exception des vaccins à base de polysac-charide purifié

Ces vaccins induisent une réponse primaire qui sera maximum 2 à 4 semaines après l 'injection. En général, les injections de rappel seront nécessaires afin d 'obtenir une persistance d'un titre d' anticorps protecteurs. Ces vaccinations nécessitent 2 à 3 injections en primo-vaccination avec des rappels tous les 5-10 ans.

Vaccins constitués de polysac-charidiques purifiés

Il s 'agit des vaccins anti-*haemophilus* de 1ère génération, des vaccins anti-pneumococciques de 1ère génération (23 valences), des vaccins anti-méningocciques A, C et W135 et du vaccin antityphique Vi. Ces vaccins à base de sucres induisent une réponse thymo-indépendante, il n 'existe donc pas d 'effet de rappel, ils sont en général non-immunogènes au cours des premiers mois de la vie et de façon générale avant 1 an. Leur efficacité est limitée dans le temps et nécessite des rappels tous les 1 à 3 ans.

Facteurs influençant la réponse immuni-taire

L'âge

D 'une façon générale, la maturité immunologique est atteinte vers 6 à 8 semaines, qui correspond à l 'âge minimum pour la plupart des vaccinations. A noter néanmoins des exceptions tels que le BCG et le vaccin dirigé contre l'hépatite B qui peuvent être administrés dans les 1er jour de vie.
Certains vaccins vivants telle que la rougeole ne sont pleinement efficaces qu'après 12 mois, du fait de la neutralisation du principe vaccinal par des anticorps maternels.

Déficit immunitaire

Les déficits immunitaires sont respon-sables d 'une inefficacité des vaccins. A souligner la contre-indication chez les patients porteurs de déficit immunitaire des vaccins vivants.

Les principaux vaccins vivants
Vaccins vivants bactériens

Il s 'agit du BCG, qui est administré par scarification, une dose est suffisante quelque soit l'effeet sur les tests cutanés.

Vaccins vivants viraux

Il s 'agit des vaccins Rougeole, Oreillon, Rubéole (ROR) administrés par voie IM/SC chez les enfants à partir de 9 mois mais en général après 1 an. Deux doses doivent être effectuées entre 1 et 6 ans, séparées par un mois d 'inter-valle.
- La varicelle, vaccin en cours de développement.
- Le vaccin anti-varioleux a injecté par voie IM/SC à partir de 6 mois et une dose est suffisante.
- Le vaccin anti-amaril injecté par voie IM/SC, une dose protège 10 ans et peut être effectuée à partir de 6 mois, il est obligatoire pour les voyageurs se rendant dans des zones d 'endémies.
- Le vaccin anti-hépatite A (IM/SC), est recommandé pour les voyageurs et doit être effectué après 1 an.

Vaccins viraux particulaires

Vaccins complets

L 'agent pathogène a été complètement inactivé. Il s 'agit des vaccins Polio, anti-grippe, anti-rabique et dirigés contre l 'encéphalite japonaise.

Vaccins fractionnés

Il s 'agit du vaccin contre l 'hépatite B.

Vaccins bactériens particulaires

Vaccins comportant des bactéries tuées

Il s'agit essentiellement des vaccins anti-coquelucheux, administrés par voie IM/SC dès la 6ème semaine de vie, 3 doses sont nécessaires avec 1 rappel à 1 an.

Vaccins fractionnés

Il s 'agit de l 'anatoxine tétanique et diphtérique, qui sont injectés à partir de 6 semaines, par voie IM/SC.
Le vaccin coquelucheux acellulaire chez l 'enfant à partir de 6 semaines, nécessitant 3 injections et de 2 rappels jusqu 'à 11 ans.

Vaccins particulaires bactériens à base de polysaccharide

Il est nécessaire de distinguer :

Les vaccins polysaccharides purifiés, qui correspondent à des vaccins anciennes générations et il n 'y a guère plus que le vaccin anti-méningocoque A et C qui est utilisé sous cette forme, ainsi que le vaccin pneumococcique 23 valences. Comme déjà mentionné, ces vaccins ne

protègent que pendant un temps limité et ne peuvent pas être effectués au-dessous de 1 mois de vie.

Les vaccins polyssacharides conjugués. Dans ce cas, le polyssacharide capsulaire est conjugué à une protéine dite porteuse et cette conjugaison transforme une réaction thymo-indépendante en réaction thymo-dépendante, ce qui rend ces vaccins immunogènes dès 6 semaines de vie et avec une protection augmentée dans le temps. Il s 'agit du vaccin anti-haemo-philus, du vaccin anti-pneumo-coccique et d 'un vaccin anti-méningo-coccique C, qui seront récemment commerci-alisés.

Effets indésirables

Réactions locales :
précoce (3 premiers jours)
douleur , infiltration
vaccins inactivés
différée (3ème-12ème semaine)
lésions suppurées + adénite
BCG
Épisodes fébriles :
précoce : vaccins inactivés (coqueluche)
différée : vaccins vivants (rougeole, fièvre jaune)
Convulsions : coqueluche, rougeole
Éruptions
Allergique (précoce) vaccin inactivé
Infectieuse (différée) rougeole
Arthralgies(adultes) : rubéole, hépatite B

Contre Indications

- Situations infectieuses préoccupantes (tous les vaccins)
- Réaction clinique sévère après injection antérieure (coqueluche-anato-xines)
- Allergie immédiate à l'ovalbumine (grippe-fièvre jaune)
- Affection neurologique évolutive (coqueluche)
- Déficit immunitaire congénital hypogammaglobulinémie : ROR, fièvre jaune
  combiné : idem + BCG
- Déficit immunitaire acquis vaccins vivants
- Grossesse : rubéole et autres vaccins vivants
- Injections récentes d'immunoglobu-lines : rougeole, ROR

Impact de la vaccination sur la morbidité et la mortalité des maladies infectieuses – Données françaises.

	Avant 1950[1]		Après 1990[2]		
	Morbidité annuelle (par million)	Mortalité annuelle (par million)	Couverture vaccinale chez les enfants (%)[3]	Morbidité annuelle (par million)	Mortalité annuelle (par million)
Diphtérie	100 – 1 000	50 - 100	90	0	0
Tétanos	> 30[4]	20 - 50	90	1 - 2	0,25 – 0,50
Coqueluche	2 000 – 10 000	20 - 50	88	< 50[5]	≈ 0,10
Tuberculose	1 000[4]	300 – 1 000	83	100 - 150[4]	13
Poliomyélite	100	5 - 10	88	0	0

[1] Vallin et Mesle, 1988 ; [2] RNSP, 1997 ; [3] données 1990 ; [4] sous-déclaration importante ; [5] estimation d'après le nombre d'enfants hospitalisés pour coqueluche.